

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Tubos Atomizadores de Titânio em Espectrometria de
Absorção Atômica com Forno Tubular na Chama e
Aerossol Térmico (TS-FF-AAS) para a determinação de
Cobre em materiais biológicos**

Marcos da Silva Gomes*

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS, área de concentração: QUÍMICA ANALÍTICA.

Orientador: Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho

* bolsista CNPq

São Carlos - SP
Fevereiro de 2009

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

G633ta

Gomes, Marcos da Silva.

Tubos atomizadores de titânio em espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS) para a determinação de cobre em materiais biológicos / Marcos da Silva Gomes. -- São Carlos : UFSCar, 2009.

79 f.

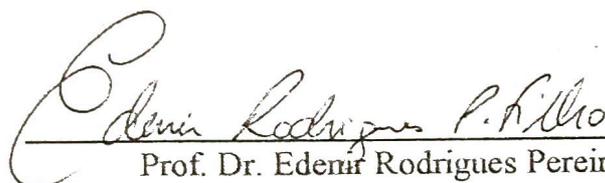
Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2009.

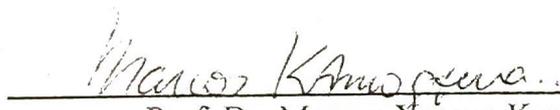
1. TS-FF-AAS. 2. Atomizadores metálicos. 3. Titânio. 4. Níquel. 5. Materiais biológicos. 6. Cobre. I. Título.

CDD: 543.07 (20^a)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Departamento de Química
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Curso de Mestrado

Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliaram e aprovaram a defesa de dissertação de mestrado do candidato Marcos da Silva Gomes, realizada em 13 de fevereiro de 2009:


Prof. Dr. Edemir Rodrigues Pereira Filho


Prof. Dr. Marcos Yassuo Kamogawa


Prof. Dr. Francisco José Krug

Dedico esta dissertação, fruto de uma alegre experiência, aos meus pais Fátima e Luiz Carlos pelo apoio, incentivo, ensinamentos e amor sem limites.

À Mariana pelo amor e companheirismo nos momentos de dúvida, dificuldade e alegria.

À minha avó Dona Maria pelas lições de vida e por ter participado de cada momento da minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Deus por minha vida, força e presença em todos os momentos.

Ao Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira-Filho pela orientação, paciência, conselhos, incentivo, prontidão e seriedade em cada passo deste trabalho e, principalmente, por permitir crescimento pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega pela oportunidade de iniciar a pesquisa científica e pela orientação durante o período de iniciação científica e pelas valiosas sugestões, incentivo e importantes lições de ética neste trabalho.

À Prof. Dra. Ana Rita de Araújo Nogueira pela amizade, apoio, sugestões durante os seminários e conversas e por permitir que parte deste trabalho fosse realizado nos laboratórios de química da Emprapa Pecuária Sudeste.

Aos professores Ivani Aparecida Carlos e Ronaldo Censi Faria pelas importantes sugestões e questionamentos.

Aos professores Marcos Yassuo Kamogawa e Francisco José Krug pelas correções, sugestões e comentários para a melhoria desta dissertação.

À Profa. Dra. Semíramis M. A. Domene, por ceder gentilmente parte das amostras de alimentos para a execução desse trabalho.

Aos professores do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos que fizeram parte da minha formação profissional.

Aos meus avós paternos Vó Cida e Vô Miguel, meus tios Cido e Rosangela e meus primos Marcelo e Marluze pelas palavras de apoio, orações e por acreditarem em mim.

Aos meus amigos de Jaú: Adriano (Dri), André, Daniel Mazon, Daniel Guilhen, Douglas, Juliano (Jujú), Murilo, Pedro, Rodolfo e todos os outros que proporcionaram momentos de alegria e descontração.

Aos todos os amigos do GAIA: Adriana Alice, Adriana Nori, Amália, Ana Beatriz, Andréa Oliveira, Caio, Carla, Carolina, Catarinie, Daniela, Eveline, Fernanda, Juliana, Kelber, Larissa, Mário, Marcelo Guerra, Marcelo Graziani, Paula, Renata, Rodolfo, Silmara, Sílvia, Simone, Tiago, Wladiana e aos ex gaia: Alexandra, Allen, Andréa, Carla, Cláudia, Clésia, Edilene, Edivan, Fernando, Flávia, George, Gilberto, Guto, Kelly, Lilian, Marcos, Mirian, Silvéria, Sherlan e Telma pela convivência, ensinamentos, sugestões e momentos de muitas alegrias.

À Lílian pelos ensinamentos e explicações durante o início de minha “carreira científica”.

Aos amigos que já passaram pela república: Carlos (Carlão), Edmar (Pitanga), Felipe, Gabriel (Broz), Murilo e Victor e aos companheiros mais experientes Caio e Rafael, pela amizade e pela descontração todos os dias da semana.

Aos amigos da turma do curso de Licenciatura em Química de 2002 pelos momentos de alegria durante a graduação e pelas convivências nos cinco anos juntos.

Aos alunos e ao Prof. Dr. Ronaldo Censi Faria pela acolhida e compreensão durante as reformas realizadas em nosso laboratório.

Aos amigos do Departamento de Química, Bruno, Elen, Fernando, Geizer, Grazielle, Gustavo, Júnior, Lúcio, Márcio, Osmundo, Ricardinho e Tati, pelos trabalhos em parceria e pela conversa jogada fora.

Aos amigos do CCDM: Fernando, Juninho, Rose e Telma pela amizade, convivência, ajuda prestada e momentos de descontração durante a interminável espera para retirar as amostras do microondas.

Aos funcionários do Departamento de Química, em especial às secretárias da Pós-Graduação: Ariane, Caroline, Cristina e Luciani pela atenção e seriedade no atendimento.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos pela oportunidade.

E ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela bolsa de estudo concedida.

LISTA DE ABREVIATURAS

APDC	Pirrolidinoditiocarbamato de amônio
BIFF-AAS	Espectrometria de absorção atômica com injeção de amostra em forno aquecido por chama
CFA-C	Aminas terciárias solúveis em água
CONAMA	Conselho nacional do meio ambiente
CRM	Material de referência certificado
DDTP	O,O-dietilditiofosfato
DHB	Ácido diidroxibenzóico
ETAAS	Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica
FAAS	Espectrometria de absorção atômica com chama
FAES	Espectrometria de emissão atômica com chama
FIA	Análise por injeção em fluxo
GFAAS	Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica com forno de grafite
HHPN	Nebulização hidráulica sob alta pressão
HLC	Lâmpada de catodo oco
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente
ICP-MS	Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente
LC	Cromatografia líquida
LPAT	Tubo de absorção de caminho longo
MEV	Micrografia eletrônica de varredura
MS	Espectrometria de massas
NaDDTC	Dietilditiocarbamato de sódio

PAN	1-(2-piridilazo)-2-naftol
PFA	Perfluoroalcóxi
PLS	Regressão por mínimos quadrados parciais
PP	Polipropileno
PTFE	Politetrafluoretileno
PUF	Espuma de poliuretano
RMN	Ressonância magnética nuclear
SAM	Método da adição de padrão
STAT	Aprisionamento de átomos por tubo com fenda
STWCAT	Aprisionamento de átomos por tubo com fenda e resfriado com água
TAM	2-2(tiazolilazo)-5-dimetilaminofenol
TFM	Politetrafluoretileno modificado
TS	Aerossol térmico
TS-FF-AAS	Espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico
WCAT	Aprisionamento de átomos por resfriamento com água
XRF	Fluorescência de raios-X
XRS	Espectrometria de raios-X

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.4.1. Tubos atomizadores empregando a TS-FF-AAS.....	28
Tabela 4.1.1. Parâmetros instrumentais utilizados na determinação de Cu por FAAS e TS-FF-AAS.....	34
Tabela 4.2.1. Composição (% m m ⁻¹) dos tubos atomizadores de Ni e Ti	40
Tabela 4.2.2. Propriedades físicas dos átomos de Ni e Ti	40
Tabela 5.1.1. Experimentos realizados no planejamento fatorial 2 ⁴ para a otimização das condições do sistema TS-FF-AAS sobre o sinal de Cu.....	44
Tabela 5.5.1. Experimentos realizados no planejamento fatorial 2 ⁴ para avaliar o sinal de Cu na presença de concomitantes.....	47
Tabela 5.5.2. Proporção concentração do concomitante/concentração de cobre nas amostras de materiais biológicos e alimentos	47
Tabela 5.7.1. Programa de aquecimento empregado para a decomposição por radiação assistida por microondas das amostras de alimentos e CRM's.....	49
Tabela 6.1.1. Condições otimizadas para o Cu utilizando a TS-FF-AAS	54
Tabela 6.2.1. Respostas analíticas obtidas através da curva de calibração utilizando-se o sistema TS-FF-AAS com tubos atomizadores de Ni e Ni/Ti ₂ e a técnica FAAS.	55
Tabela 6.3.1. Comparação entre os valores de absorvância e absorvância integrada entre diversos tubos atomizadores com o tubo de Ni ₆ para soluções de Cu.....	57
Tabela 6.4.1. Valores das temperaturas estimadas da fase gasosa em tubos atomizadores diferentes e na chama do espectrômetro.....	59
Tabela 6.5.1. Percentagem de interferência para as respostas absorvância e absorvância integrada entre os sinais de Cu na ausência e presença de concomitante utilizando tubo atomizador de Ni ₆	63
Tabela 6.5.2. Percentagem de interferência para as respostas absorvância e absorvância integrada entre os sinais de Cu na ausência e presença de concomitante utilizando tubo atomizador de Ni/Ti ₁	63
Tabela 6.7.1. Valores de concentração (µg g ⁻¹) para Cu nas amostras de CRM's....	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.3.1. Ocorrência do fenômeno Leidenfrost sobre gotas de água em uma chapa aquecida (a) e (b).	16
Figura 4.2.1. Representação da montagem do sistema TS-FF-AAS, composto por bomba peristáltica, injetor comutador, capilar cerâmico e tubo atomizador	35
Figura 4.2.2. Configurações dos tubos atomizadores de Ni (a e b), Ti (a, c, d e e) e Inconel (a) usados no trabalho. Todas as dimensões estão indicadas em mm. Em cada Figura são mostradas as vistas frontal, lateral e superior.....	38
Figura 4.2.3. Configurações dos tubos atomizadores Ti que foram inseridos dentro de tubos de Ni (ver Figura 4.2.2.(a)) usados no trabalho. Todas as dimensões estão indicadas em mm. Em cada Figura são mostradas as vistas frontal, lateral e superior.	39
Figura 6.1.1. Gráfico de probabilidade para os efeitos: tubo atomizador, vazão do carregador, volume de amostragem e altura do tubo sobre o atomizador, sobre o sinal de Cu utilizando valores de absorvância e absorvância integrada como respostas analíticas.....	51
Figura 6.1.2. Diagrama dos experimentos obtidos pelo planejamento fatorial 2^4	53
Figura 6.2.1. Curvas de calibração para soluções de Cu 50, 100, 250 e 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ obtidas em FAAS e TS-FF-AAS com tubos atomizadores de Ni6 e Ni/Ti2.....	54
Figura 6.3.1. Diagrama dos sinais analíticos para 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cu utilizando diferentes tubos atomizadores de diferentes configurações.	56
Figura 6.4.1. Temperatura estimada da fase gasosa de diferentes tubos atomizadores e na chama ar/acetileno.....	58
Figura 6.5.1. Gráfico de probabilidade para os efeitos dos concomitantes, sobre o sinal de Cu utilizando valores de absorvância (a) e absorvância integrada (b) como respostas analíticas empregando tubos atomizadores de Ni6 e Ni/Ti1	60
Figura 6.5.2. Diagrama dos sinais analíticos para 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cu na presença de concomitantes empregando (a) tubo atomizador de Ni6 e (b) tubo atomizador de Ni/Ti1	62
Figura 6.6.1. Micrografias dos tubos atomizadores de Ti com aumento de 1000x. (a) Imagens da superfície externa dos tubos de Ti usado e (b) novo e (c) imagem da fratura do tubo de Ti usado	65
Figura 6.2.2. Difratoograma de raios-X dos tubos de Ti (a) novo e (b) usado.....	66

RESUMO

UTILIZAÇÃO DE TUBOS ATOMIZADORES DE TITÂNIO EM ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO TUBULAR NA CHAMA E AEROSSOL TÉRMICO (TS-FF-AAS)

Neste trabalho foram utilizados tubos atomizadores de Ti empregando o sistema TS-FF-AAS para a melhoria do desempenho analítico da FAAS. A TS-FF-AAS foi aplicada para a determinação de Cu em amostras alimentícias e biológicas. Os tubos de Ti foram empregados como alternativa aos tubos de Ni. Foram avaliados diferentes arranjos de tubos atomizadores de Ti, bem como tubos combinando Ni e Ti (Ni/Ti), inserindo-se tubos de Ti no interior de tubos de Ni. Foi realizado um planejamento fatorial 2^4 para averiguar a influência de diversas variáveis no sistema. Os melhores resultados obtidos foram alcançados utilizando volume de amostra de 300 μL , altura do tubo atomizador de 5 mm, vazão do carregador de 0,4 mL min^{-1} e tubo atomizador de Ti com 70 mm de comprimento. O comprimento do tubo foi a variável mais significativa, apresentando um efeito positivo de 30%. Este aumento da sensibilidade está relacionado à formação de TiO_2 (confirmado por microanálise e difratometria de raios-X) no interior dos tubos de Ti (houve um ganho de 45% de massa em relação à massa inicial), melhorando a atomização do Cu que ocorre preferencialmente *via* óxido. O limite de detecção obtido foi de 2 $\mu\text{g L}^{-1}$. As temperaturas da fase gasosa para os tubos de Ni, Ti e Ni/Ti foram estimadas utilizando uma solução de Sn 150 mg L^{-1} para explicar as diferenças de sensibilidade. As temperaturas estimadas para os tubos (Ni, Ti e Ni/Ti) apresentaram magnitudes semelhantes, sugerindo que a temperatura da fase gasosa não é a razão para a maior sensibilidade quando é utilizado o tubo de Ni/Ti. Um planejamento fatorial 2^4 foi aplicado para averiguar o sinal de Cu 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ na presença de Ca, K, Mg e Na. De acordo com o gráfico de probabilidade, cerca de 10% de aumento sobre o sinal de Cu foi observado na presença de Mg e 10% de diminuição na presença de K. O comportamento dos tubos atomizadores de Ni e Ni/Ti foi semelhante na presença dos concomitantes. A exatidão do método foi averiguada utilizando materiais de referência certificados (CRM's). As amostras foram digeridas assistidas por radiação microondas e os valores de recuperação foram entre 91 e 107%. O teste t não pareado não mostrou haver diferenças estatísticas significativas entre os valores certificados e os encontrados dentro do nível de confiança de 95%.

ABSTRACT

USE OF TITANIUM ATOMIZERS TUBES IN THERMOSPRAY FLAME FURNACE ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY (TS-FF-AAS)

In this work it was used Ti atomizers tubes employing TS-FF-AAS system to improve the analytical performance of FAAS. The TS-FF-AAS was applied for Cu determination in food and biological samples. The Ti tubes were used as an alternative of the Ni tubes. It was evaluated different arrangements of Ti tubes, as well as tubes combining Ni and Ti (Ni/Ti) inserting Ti tube inside Ni tubes. A 2^4 factorial design was performed in order to evaluate the influence of several variables in the system. The best results were achieved using a 300 μL sample loop, 5 mm tube height, 0.4 mL min^{-1} carrier flow rate, and 70 mm Ti tube length. Tube length was the most important variable, presenting a positive effect of 30%. This high sensitivity is related to the formation of TiO_2 (confirmed by microanalysis and X-ray diffractometry) inside the Ti tube (gain of 45% mass in comparison of initial mass), improving the Cu atomization through the oxide *via*. The detection limit obtained was 2 $\mu\text{g L}^{-1}$. Gaseous phase temperatures of Ni, Ti, and Ni/Ti tubes were estimate using a Sn 150 mg L^{-1} solution in order to explain differences in sensitivity. The estimated temperatures for the tubes (Ni, Ti and Ni/Ti) were in the same magnitude, suggesting that the temperature in the gaseous phase is not the reason for high sensitivity using Ni/Ti tubes. Cu 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ signal was measured in the presence of Ca, K, Mg and Na using a 2^4 factorial design. According to the probability graphic a 10 % increase in the Cu signal was observed only when Mg was present and K presence decrease the Cu signal. The behaviors of the Ni and Ni/Ti atomizers tubes were similar in the concomitants presence. The method accuracy was confirmed using certified references materials (CRM's). The samples were digested by microwave-assistance and the recoveries values ranged from 91 to 107%. The unpaired t test did not show statistic difference between certified and found values, into the confidence level of 95%.

SUMÁRIO

1. Introdução	2
2. Objetivo	5
3. Revisão Bibliográfica	7
3.1. Espectrometria Atômica.....	7
3.2. Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS).....	9
3.2.1. Aprisionamento de átomos em espectrometria de absorção atômica com chama.....	11
3.3. Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Tubular na Chama e Aerossol Térmico (TS-FF-AAS).....	14
3.4. Tubos atomizadores em espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico.....	27
3.5. Preparo de amostra.....	28
3.5.1. Decomposição assistida por radiação microondas.....	29
3.6. Cobre.....	32
4. Materiais e Métodos	34
4.1. Equipamentos e acessórios.....	34
4.2. Sistema TS-FF-AAS.....	35
4.3. Reagentes e soluções.....	40
4.4. Amostras e materiais de referência certificados.....	41
4.5. Descontaminação dos materiais.....	41

5. Procedimento Experimental	43
5.1. Otimização do sistema TS-FF-AAS	43
5.2. Figuras de mérito	44
5.3. Estudo do sinal analítico de Cu empregando diferentes tubos atomizadores em TS-FF-AAS	45
5.4. Teste de temperatura.....	45
5.5. Estudo do sinal analítico de Cu na presença de concomitantes.....	46
5.6. Micro-análises e difratometria de raios-X.....	48
5.7. Determinação da concentração de Cu em digeridos de alimentos e materiais biológicos.....	48
6. Resultados e Discussão	51
6.1. Otimização do sistema TS-FF-AAS	51
6.2. Figuras de mérito.....	54
6.3. Estudo do sinal analítico de Cu empregando diferentes tubos atomizadores em TS-FF-AAS	55
6.4. Teste de temperatura.....	58
6.5. Estudo do sinal analítico de Cu na presença de concomitantes.....	59
6.6. Micro-análises e difratometria de raios-X.....	64
6.7. Determinação da concentração de Cu em digeridos de alimentos e materiais biológicos.....	67
7. Conclusões	71
8. Referências Bibliográficas	74

Capítulo 1

INTRODUÇÃO

1. Introdução

Assim como outras áreas das Ciências Exatas, a Química apresentou uma evolução histórica até chegar ao seu estágio moderno e às suas atuais características. Desde a antiguidade as civilizações faziam o uso da Química e suas transformações como forma de sobrevivência e de interesses econômicos, como fabricação de cerâmicas, extração de corantes de árvores, fabricação de vinagre e bebidas alcoólicas, produção de vidro e metais, entre outros¹. Todo o desenvolvimento científico e tecnológico é decorrente de uma sociedade atual exigente e competitiva.

Hoje, as atuais entidades de fiscalização estão mais exigentes no controle de espécies que podem ser potencialmente prejudiciais à população. Portanto, como forma de se adequar a essas normas é necessário o aperfeiçoamento ou o desenvolvimento de novos métodos analíticos para a determinação de quantidades cada vez menores dessas espécies químicas^{2, 3}.

Dessa forma, a Química Analítica deve propor meios para que seja possível a determinação de uma ou mais espécies químicas em diferentes amostras. A resolução 357 do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) trata das normas ambientais para o enquadramento dos corpos de água e o estabelecimento de normas para o descarte de efluentes⁴. Os níveis permitidos para essas espécies encontram-se, para a maioria dos elementos, na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$ e ng L^{-1} , necessitando de técnicas altamente sensíveis para a detecção das mesmas nessas faixas de concentração⁵. A espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*) é uma técnica rotineiramente utilizada para a determinação elementar de mais 60 metais e metalóides, caracterizando-se por sua simplicidade, rapidez e reduzidos custos. Entretanto, possui várias limitações como a baixa eficiência no processo de nebulização e introdução da amostra. Dessa forma os limites de detecção, para a maioria dos elementos, encontram-se na faixa de mg L^{-1} ⁶.

Visando ao aprimoramento da FAAS, várias alternativas^{7,8} foram propostas para aumentar a sensibilidade. A espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS, do inglês *Thermospray Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry*) foi desenvolvida utilizando-se um espectrômetro de absorção atômica e os mesmos princípios da FAAS, porém,

posicionando-se um tubo atomizador (metálico, cerâmico ou de quartzo) sobre uma chama oxidante de ar/acetileno, possibilitando melhora apreciável na geração do aerossol (formado por um capilar cerâmico aquecido), aumento da concentração de átomos na nuvem e total introdução da amostra no interior do tubo atomizador⁹. Dessa forma é possível obter limites de detecção na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$ e, em alguns casos, ng L^{-1} .

Nas aplicações da TS-FF-AAS percebe-se a larga utilização de tubos atomizadores de Ni, entretanto diferentes tipos de tubos atomizadores, de variadas configurações, já foram propostos visando à diminuição dos limites de detecção para os analitos de interesse¹⁰.

Nesta dissertação, avaliou-se a utilização de tubos atomizadores de Ti de diferentes arranjos (diâmetro externo e interno, comprimento e quantidade de orifícios) empregando a TS-FF-AAS para a determinação de Cu em amostras de interesses alimentício e materiais de referência certificados (CRM, do inglês *Certified Reference Materials*). Estas amostras foram digeridas em meio de HNO_3 diluído com o auxílio de radiação microondas. Diversos experimentos foram realizados para averiguar o comportamento dos tubos atomizadores de Ti sobre o sinal analítico do Cu. Avaliou-se o comportamento dos tubos atomizadores de Ni e Ti na presença dos concomitantes comumente encontrados em amostras alimentícias: Ca, K, Mg e Na. Através do estudo das temperaturas estimadas da fase gasosa nos tubos atomizadores de Ni e Ti e das imagens de superfície obtidas foi proposto um mecanismo para a atomização do Cu.

Capítulo 2

OBJETIVO

2. Objetivo

O objetivo desta dissertação de mestrado foi realizar um estudo sobre o uso de tubos atomizadores de Ti, de diferentes configurações, empregando a TS-FF-AAS para a determinação de Cu em amostras de interesse alimentício, bem como a averiguação da exatidão do método proposto empregando CRM's.

Capítulo 3

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3. Revisão Bibliográfica

Durante todo o processo evolutivo, o ser humano sempre buscou se adaptar as melhores condições de vida utilizando-se de recursos pertinentes da época. Essas condições se tornaram mais relevantes a partir do início da Revolução Industrial. Neste contexto a sociedade vivenciou processos de grande evolução tecnológica e científica e, desde então, aconteceram importantes avanços em diversas áreas do conhecimento, e, conseqüentemente, em ciências. Analogamente, por trás de todo o desenvolvimento de uma técnica analítica há grande dependência com o desenvolvimento de novas tecnologias. Alan Walsh, em trabalhos desenvolvidos sobre espectrometria de absorção atômica, pretendia utilizar fonte de radiação contínua, porém, as limitações tecnológicas da época, possibilitaram melhores resultados quando foi utilizada uma lâmpada de fonte de linha³.

Dessa forma, neste capítulo serão revisados os principais tópicos sobre o processo de evolução da espectrometria atômica e como algumas improvisações instrumentais foram valiosas para tal evolução.

3.1. Espectrometria Atômica

Em meados do século XVII Isaac Newton descreveu pela primeira vez o fenômeno da decomposição da luz. Para isso foram utilizados prismas para demonstrar que a luz podia ser decomposta e recomposta. Essas cores decompostas podem ser facilmente perceptíveis em um arco-íris, sendo o conjunto dessas cores, vermelho, laranja, amarelo, verde, azul, anil e violeta, conhecidas como espectro¹¹. Carl Wilhelm Scheel, em 1777, realizou experimentos adicionando cloreto de prata em diferentes regiões do espectro solar obtidos por um prisma e observou que a cor violeta era a mais energética do espectro, pois era próximo a essa cor que o espectro ficava com a coloração escura mais rapidamente. A cor violeta acelerava mais intensamente a reação de redução dos íons prata¹¹.

Vinte e quatro anos mais tarde, Johann Wilhelm Ritter e William Hyde Wollaston, trabalhando independentemente, descobriram a existência de uma radiação mais energética que a luz violeta. Essa nova radiação, invisível aos olhos,

humanos foi chamada de ultravioleta. Na mesma época, William Herschel, realizando experimentos com o espectro solar, resolveu colocar um termômetro sobre cada uma das regiões coloridas e percebeu que as maiores temperaturas ocorriam próximas à região vermelha e que, além dessa região, as temperaturas eram maiores ainda. Essa radiação além da região do vermelho foi denominada infravermelho¹¹

Além da descoberta da radiação ultravioleta, Wollaston observou linhas escuras no espectro contínuo solar da luz quando trabalhava com feixes de luz estreitos, diferentemente das observações feitas por Leonardo da Vinci, Rene Descartes e Isaac Newton, que apenas visualizavam as sete cores do espectro. Entretanto, Wollaston não estava interessado nessas linhas escuras formadas. Observações semelhantes foram realizadas por Joseph Fraunhofer, que constatou a existência de inúmeras linhas escuras sobre o espectro solar e que estas linhas também ocorriam em outras regiões do espectro¹².

Em 1859, Gustav Robert Kirchhoff mostrou que as linhas escuras sobre o espectro, descritas por FRAUNHOFER, coincidiam com as linhas amarelas emitidas por chama contendo sódio. Em associação com Robert Bunsen, inventor de um queimador para observar a emissão dos elementos, KIRCHHOFF demonstrou que as radiações em cada espectro eram características dos metais na chama e que a atmosfera solar continha elementos que absorviam comprimentos de onda característicos do espectro solar, resultando nas linhas escuras descritas por FRAUNHOFER. KIRCHHOFF concluiu que o sódio gasoso absorvia e emitia luz de mesma energia. Essas pesquisas foram decisivas para a espectroscopia de emissão com chama, reconhecendo que as linhas espectrais emitidas pelos metais ocorrem em comprimentos de ondas específicos, bem como a identificação de novos elementos como rubídio e célio^{12, 13}.

A relação entre a estrutura atômica e interação dos átomos com a radiação foi estabelecida por Max Planck. Ele propôs que a troca de energia entre a matéria e a radiação ocorre em pacotes de energia, denominados quanta, e que um átomo somente pode absorver radiação em comprimentos de onda e em frequências bem definidas, demonstradas pela lei de Planck³.

Experimentos realizados por KIRCHHOFF e BUNSEN na segunda metade do século XIX possibilitaram estabelecer relações básicas entre absorção e emissão. Nesses experimentos foram utilizadas lâmpadas que variavam todo o

espectro visível. Testes semelhantes foram realizados por LOCKYER. A partir deste momento a espectrometria de absorção atômica foi essencialmente esquecida e a espectrometria de emissão óptica se tornou a técnica escolhida pelos analistas para averiguar a composição elementar de diversos materiais, principalmente os de interesse metalúrgico¹⁴.

A espectrometria de emissão atômica por chama (FAES, do inglês *Flame Atomic Emission Spectrometry*) é uma alternativa instrumental de baixo custo para determinação de uma série de elementos inorgânicos como Li^+ , Na^+ , K^+ e Ca^{2+} em diferentes amostras simples e que requerem tratamento prévio mínimo¹³. OKUMURA et al.¹³ propuseram experimentos que poderiam ser realizados sem recursos instrumentais sofisticados. Dentre os experimentos para análise por FAES tem-se a determinação de cloreto de sódio em soro fisiológico, determinação de lítio em comprimidos antidepressivos, determinação de cálcio em águas naturais e determinação de Na^+ e K^+ em bebidas isotônicas.

3.2. Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS)

A FAAS é uma das técnicas de maior aplicação no segmento da análise instrumental. Isso é decorrência de alguns atrativos como baixo custo, boa seletividade e relativa simplicidade, podendo ser encontrada para a determinação de diversos analitos em muitos laboratórios de análises de rotina³.

Alan Walsh foi um dos mais importantes colaboradores em pesquisas sobre espectrometria de absorção atômica e durante muito tempo desenvolveu pesquisas em espectrometria de emissão atômica³. WALSH se questionava sobre o porquê do estudo espectroscópico das moléculas são baseado em medidas da radiação absorvida e o estudo dos átomos são baseado em medidas de emissão atômica¹⁵. Em um dos experimentos, WALSH, utilizou uma lâmpada de descarga de sódio como fonte de radiação e uma chama para a atomização da solução de sódio, obtendo resultados promissores. Em abril de 1955 WALSH publicou seu primeiro artigo sobre a aplicação da espectrometria de absorção atômica para análises químicas. Este artigo marcou o nascimento oficial de um novo método para análise instrumental¹⁵.

Um dos passos fundamentais para o êxito inicial da técnica foi o aperfeiçoamento da fonte de radiação em linha com espectro de emissão de linhas, as lâmpadas de catodo oco, descrita pela primeira vez por PASCHEN, em 1916³. Durante o início das pesquisas, WALSH pretendia utilizar fonte de radiação contínua, porém era necessária uma resolução dos monocromadores de aproximadamente 2 pm para distinguir as linhas de emissão, o que era impossível até mesmo aos melhores espectrômetros da época. Assim este tipo de fonte de radiação só pôde ser profundamente investigada com o desenvolvimento de tecnologias mais avançadas¹⁴.

A espectrometria abrange um grupo de métodos analíticos baseados na espectroscopia atômica e molecular, sendo espectroscopia um termo geral para a ciência que estuda a interação de diferentes tipos de radiação com a matéria. De acordo com a teoria atômica de BÖHR, se um átomo que se encontra no estado fundamental receber energia, alguns elétrons das camadas mais externas podem ser excitados para estados de maior energia. Se esses átomos excitados retornarem ao seu estado fundamental, a energia absorvida é liberada na forma de radiação eletromagnética em comprimentos de onda específicos. Na espectrometria de absorção atômica, a quantificação de um elemento baseia-se na lei de LAMBERT-BEER, que relaciona a intensidade de radiação absorvida pelos átomos com a concentração da mesma. Lâmpadas de catodo oco emitem radiação eletromagnética em comprimentos de onda específicos aos analitos de interesse. Quando o átomo gasoso entra em contato com a chama, com temperatura na faixa de 2200°C, ocorrem os processos de atomização e a absorção da radiação emitida pela fonte de radiação. A diferença entre a quantidade de radiação emitida pela lâmpada de catodo oco e a quantidade de radiação que percorre o sistema óptico até chegar ao detector é a radiação absorvida, que é quantificada em valores de concentração¹⁶.

A espectrometria de absorção atômica utiliza uma chama, geralmente constituída por uma mistura ar/acetileno ou óxido nitroso/acetileno, para a atomização dos elementos químicos. Esse processo emprega um nebulizador com uma baixa eficiência no processo de introdução da amostra, onde cerca de 5 a 10% da amostra aspirada atinge efetivamente a chama. A amostra, geralmente líquida, é introduzida em uma chama, onde ocorrem fenômenos físicos e químicos, como evaporação, vaporização e atomização. Além disso, o tempo de residência dos

átomos no volume de absorção é bastante reduzido, sendo inferior a 10 ms. Desta forma, a utilização da FAAS fica limitada quando os analitos de interesse estão em baixas concentrações nas amostras. Os limites de detecção da FAAS raramente se encontram em concentrações de $\mu\text{g L}^{-1}$ ³. Por isso no final da década de 60 o interesse sobre a FAAS diminuiu bruscamente, e, em virtude de uma série de limitações, descritas por WALSH em 1974, como problemas relacionados à chama e a incompleta atomização da amostra¹⁷. Essas características desfavoráveis levaram alguns pesquisadores a concluir que novos desenvolvimentos científicos com FAAS estariam limitados¹⁸ ou que novos métodos de atomização deveriam ser desenvolvidos¹⁵.

3.2.1. Aprisionamento de átomos em espectrometria de absorção atômica com chama

Na tentativa de solucionar ou minimizar os problemas referentes ao ineficiente processo de introdução da amostra, causados por problemas na nebulização, e ao baixo tempo de residência dos átomos na nuvem atômica formada, vários arranjos instrumentais surgiram para o aprimoramento da espectrometria de absorção atômica com chama. Entretanto, procurou-se manter os atrativos econômicos da FAAS⁷.

Após a introdução da espectrometria de absorção atômica para aplicações diversas, ROBINSON¹⁹ utilizou uma célula de atomização, para que o tempo de residência dos átomos no caminho óptico aumentasse. Para isso, utilizou um tubo de quartzo com o formato de um “T” sobre o queimador de um espectrômetro de absorção atômica com chama, obtendo um aumento de 10 vezes na sensibilidade para uma solução de Pt. Entretanto, comportamentos semelhantes não foram observados para soluções aquosas de Ni e Na.

Utilizando um sistema semelhante ao proposto por ROBINSON¹⁹, ZELJUKOVA & POLUEKTOV²⁰, com chama ar/propano/butano, determinaram Ag, Au, Cd e Cu e obtiveram aumento na sensibilidade de 5 a 13 vezes.

FUWA & VALLEE²¹ propuseram um método denominado LPAT, do inglês *Long-Path Absorption Tube*, no qual um tubo de quartzo é inserido em um

tubo de borossilicato. Neste arranjo um queimador é posicionado próximo à extremidade da célula de absorção. A solução aspirada é atomizada e os produtos da combustão são injetados ao longo do tubo. Foram obtidas melhoras na sensibilidade para Cd, Co, Cu e Ni e Zn. Entretanto, alguns problemas relacionados ao grande gradiente de temperatura podem ocorrer como a formação de espécies moleculares por recombinação, que concorrem para o aumento da absorção de fundo.

Outro arranjo instrumental relativamente simples foi proposto por DELVES²², na tentativa de viabilizar a introdução da amostra e de solucionar problemas com os processos de nebulização. Basicamente um minicadinho de Ni foi posicionado sobre o queimador de um espectrofotômetro com chama e acima deste foi ajustado um tubo de Ni com abertura inferior. Nesse sistema, a amostra foi posicionada no microcadinho e vaporizada sobre a chama do queimador e abaixo do tubo metálico de Ni. A amostra foi atomizada dentro do tubo de Ni, possibilitando a determinação direta de Pb em amostras de sangue. O limite de detecção obtido foi de $11,9 \mu\text{g L}^{-1}$. Entretanto, DELVES reportou a dificuldade na determinação de Pb e Cu em amostras orgânicas devido a processos de interferência²². Vários parâmetros foram otimizados desde a proposta de DELVES como a utilização de diferentes microcadinhos e composição da chama^{23,24}.

Utilizando um sistema de nebulização pneumática e um espectrômetro de absorção atômica com chama, WATLING²⁵ posicionou um tubo de quartzo com duas aberturas (uma sobre o queimador e a outra a 120° desta primeira abertura) sobre o queimador como forma de aprisionar os átomos ao longo do caminho óptico, semelhantemente ao sistema proposto por DELVES²². Este arranjo foi chamado STAT, do inglês *Slotted Tube Atom Trap*, e possibilitou melhora significativa no sinal analítico de elementos voláteis como Ag, As, Bi, Cd, Sb, Se e Sn em comparação a espectrometria com chama convencional²⁶. Essa melhora se deve principalmente ao aumento da concentração da nuvem de átomos posicionados sob o caminho óptico e ao maior controle da intensidade da chama no interior do tubo. Um dos problemas constatados no uso dos tubos de quartzo foi em relação ao baixo tempo de vida útil quando foram introduzidos metais alcalinos junto com os analitos de interesse. Como alternativa aos tubos de quartzo, tubos de aço inoxidável e de grafite foram avaliados, possibilitando melhora na sensibilidade para alguns analitos como Cu, Hg e Zn⁷.

LAU et al.²⁷ demonstraram que é possível aumentar a sensibilidade da FAAS realizando a pré-concentração do analito de interesse antes ou simultaneamente a sua determinação. Este sistema foi chamado de WCAT, do inglês *Watter-Cooled Atom Trap*. Basicamente um tubo de quartzo, posicionado sobre o queimador de um espectrômetro de absorção atômica, foi acoplado a um sistema de resfriamento por água posicionado abaixo do sistema óptico. O tubo de quartzo era resfriado por um fluxo de água fria no qual os analitos de interesse eram condensados na superfície fria do tubo. Quando o fluxo de água era interrompido, a temperatura do tubo aumentava bruscamente e os analitos eram atomizados. O sistema WCAT demonstrou ser eficiente por aumentar a sensibilidade de elementos voláteis, por envolver baixos custos e por ser de simples manuseio. Entretanto, a frequência analítica do sistema WCAT é reduzida em comparação ao sistema FAAS convencional por precisar de um tempo adicional para a pré-concentração dos átomos⁷.

Duas alternativas ao sistema convencional FAAS descritas anteriormente por MATUSIEWICZ⁷, STAT e WCAT, foram combinadas gerando a STWCAT, do inglês *Slotted-Tube Water Cooled Atom Trap*²⁸. O uso destas técnicas combinadas pode ser uma alternativa às determinações realizadas por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GFAAS), do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*, pois, para alguns elementos, como o Cd e o Pb, é possível obter sensibilidades semelhantes utilizando a WCAT.

Em 2000, GÁSPÁR & BERNDT⁸ desenvolveram uma nova técnica como estratégia para o aumento na sensibilidade da espectrometria de absorção atômica com chama. Neste novo arranjo, denominado BIFF-AAS, do inglês *Beam-Injection Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry*, a amostra era introduzida, após percorrer uma distância de aproximadamente 10 cm, por um jato líquido em alta velocidade até uma pequena abertura de um tubo atomizador metálico ou cerâmico posicionado sobre o queimador de um espectrômetro de absorção atômica com chama. Este método foi primeiramente descrito por BERNDT²⁹ para a determinação de Pb utilizando nebulização hidráulica sob alta pressão (HHPN), do inglês *Hydraulic High-Pressure Nebulization*, empregando uma bomba de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), do inglês *High Pressure Liquid Chromatograph*, para a geração do jato líquido e, posteriormente, utilizado por NEIRA

& BERNDT³⁰ para a determinação de Cd e Pb em soluções aquosas. A utilização da BIFF-AAS possibilitou o aperfeiçoamento no poder de detecção de 6 a 200 vezes, em soluções aquosas na ausência de concomitantes, para Ag, As, Au, Bi, Cd, Cu, Hg, In, K, Pb, Pd, Rb, Sb, Se, Te, Tl e Zn ⁸.

Pensando na eficácia do processo de introdução da amostra em FAAS e no baixo tempo de residência dos átomos na chama, novamente, GÁSPÁR & BERNDT⁹ propuseram uma forma de introdução total da amostra com o uso de um aerossol térmico e um tubo atomizador posicionado sobre a chama, visando melhorias na sensibilidade analítica da FAAS. Esta nova proposta foi denominada de TS-FF-AAS.

3.3. Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Tubular na Chama e Aerossol Térmico (TS-FF-AAS)

Desde a proposta inicial feita por WALSH³¹, vários trabalhos foram desenvolvidos procurando solucionar os maiores problemas referentes à espectrometria de absorção atômica com chama. Inúmeros trabalhos foram descritos na tentativa de aperfeiçoar o sistema de introdução da amostra e aumentar o tempo de residência dos analitos na FAAS⁷.

Uma das maiores limitações da FAAS é relacionada à baixa eficiência da nebulização pneumática. Somente de 5 a 10% do aerossol formado atinge efetivamente a chama³. O termo aerossol térmico (TS, do inglês *ThermoSpray*) foi originalmente proposto por VESTAL et al.³² como interface entre a cromatografia líquida (LC, do inglês *Liquid Chromatography*) e a espectrometria de massas (MS, do inglês *Mass Spectrometry*). O sistema de formação do aerossol é simples, sendo este produzido por passagem da solução do analito através de um capilar aquecido. Na espectrometria atômica, o sistema de introdução da amostra por aerossol térmico é usualmente aplicado em análises por espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES, do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*) ou por espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS, do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass*

Spectrometry), porém esforços têm sido feitos para utilizá-lo em FAAS em substituição aos nebulizadores pneumáticos³³.

GÁSPÁR & BERNDT⁹ utilizaram aerossol térmico formado pelo aquecimento de um capilar cerâmico para introduzir a amostra, impulsionada por uma bomba de HPLC, no interior de um tubo atomizador posicionado sobre o queimador. Esta nova proposta deu origem à TS-FF-AAS. Neste trabalho houve total introdução da amostra no interior do tubo atomizador e aumento no tempo de residência dos átomos para sofrer os processos de atomização. Segundo os autores a combinação desses dois fatores aumentava consideravelmente o poder de detecção de elementos voláteis e ligeiramente voláteis. Foram introduzidos, no interior do tubo, volumes variando de 2,5 a 250 μL de soluções de Cd, Cu, Hg, Pb e Tl. Para um volume de 10 μL os limites de detecção obtidos para estes analitos foram 0,19, 1,3, 21, 13 e 5,2 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Desta forma, foi possível diminuir os limites de detecção de 14 a 67 vezes para os analitos investigados quando comparado com a FAAS.

No mesmo trabalho⁹ os autores concluíram que o tamanho das gotas formadas pelo aquecimento do capilar cerâmico e, introduzidas no interior do tubo atomizador, não influenciava no resultado analítico de forma intensa como ocorrem em outras técnicas espectroscópicas, as quais são altamente dependentes do tamanho das gotas formadas. Isso se deve ao fato do aerossol formado ser introduzido a uma temperatura de aproximadamente 900°C, onde a maioria das gotas é evaporada imediatamente independentemente do tamanho das mesmas. Porém, se uma gota atinge o interior do tubo atomizador, forma-se ao redor desta uma película. Dessa forma, quando gotas maiores atingem o interior do tubo atomizador, formam-se novas películas fazendo com que as mesmas se choquem com a parede do tubo sendo refletidas por razão do fenômeno Leidenfrost³⁴. Esse fenômeno ocorre quando um líquido, em contato com uma superfície muito mais quente do que seu ponto de ebulição, produz uma camada de vapor que impede que ele se evapore rapidamente³⁵ (Figura 3.3.1.).

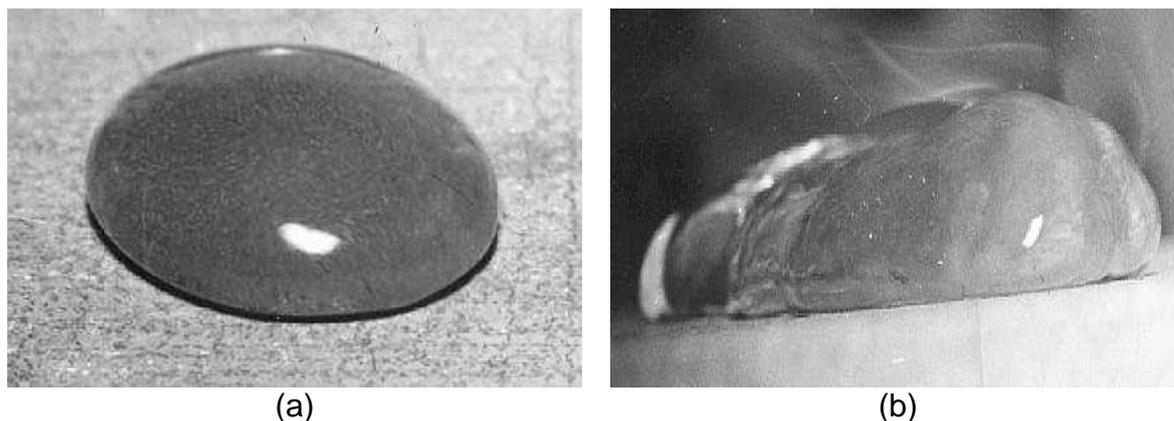


Figura 3.3.1. Ocorrência do fenômeno Leidenfrost sobre gotas de água em uma chapa aquecida³⁵ (a) e (b).

Em 2002, o sistema TS-FF-AAS proposto por BERNDT & GÁSPÁR⁹ foi aperfeiçoado por GÁSPÁR et al.³⁶ no intuito de determinar elementos traços em pequenos volumes de amostra (microlitros ou submicrolitros). Foi utilizado um capilar de sílica fundido para a formação do aerossol e o líquido foi transportado com auxílio de um gás para propulsão. Diferentes volumes de amostra foram avaliados e variaram de 0,3 a 50 μL . Já os diâmetros internos do capilar cerâmico variaram de 25 a 200 μm . Os limites de detecção determinados para soluções de 0,3 e 10 μL de Pb foram de 69 e 43 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Para um volume de 100 μL utilizando o sistema FAAS, o limite de detecção obtido para o Pb foi de 450 $\mu\text{g L}^{-1}$, 10 vezes maior em relação ao sistema TS-FF-AAS.

No mesmo ano, PEREIRA-FILHO et al.³⁷, utilizaram a TS-FF-AAS para a determinação de Cd, Cu e Pb em amostras biológicas e alimentícias. O sinal de uma solução 8 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cd foi avaliado introduzindo-se volume de 300 μL a uma vazão do carregador de 0,4 mL min^{-1} , empregando-se capilares cerâmicos de diferentes diâmetros interno (variando de 0,5 a 1,0 mm). Maiores sinais para valores de absorvância foram obtidos com um menor diâmetro. Não foram observadas diferenças significativas nos valores de absorvância para soluções de Cd em suspensões de folhas de tomate em diferentes concentrações ácidas (variando de 0,3 a 3,0 mol L^{-1}). Os sinais de Cu, Cd e Pb com concentrações de 100, 10 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, foram avaliados na presença dos concomitantes K, Mg e Na e não apresentaram diferenças significativas para valores de absorvância na ausência e presença dos mesmos. Ainda neste trabalho, os autores introduziram as amostras na forma de suspensões, preparadas em HNO_3 e Triton X-100. Foram avaliadas

duas configurações diferentes para os tubos de Ni. Maiores valores de absorvância foram obtidos utilizando-se o tubo atomizador com maiores diâmetros interno e externo, devido ao maior tempo de residência do analito no interior do tubo. Os limites de detecção obtidos para Cd, Cu e Pb foram 0,5, 4,3 e 3,5 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os valores certificados e os encontrados (teste t não pareado em um nível de 95% de confiança). Valores de referência adicionais foram obtidos empregando espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS, do inglês *Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry*).

Em outro trabalho, DAVIES & BERNDT³⁸ otimizaram a configuração e a constituição dos tubos atomizadores e avaliaram o desempenho do sinal analítico para uma solução 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb usando capilares de diferentes composições e diâmetros interno e externo empregados na TS-FF-AAS. Três tipos de bombas de propulsão foram empregadas para averiguar a influência sobre o sinal analítico de uma solução 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ Pb em um volume de 200 μL . Resultados mais sensíveis foram obtidos com o emprego de tubos atomizadores de Ni puro de 12 cm de diâmetro externo com espessura de 1 cm e 6 orifícios na parte inferior, onde ocorre o contato com a chama do queimador. O capilar cerâmico com 0,5 mm de diâmetro interno e 2,0 mm de diâmetro externo e com comprimento de 10 cm foi empregado nas determinações por ser mecanicamente estável e por ser utilizado por aproximadamente 100 horas sem ser danificado. Aumentos de sensibilidade de 3 a 117 vezes em relação à FAAS foram obtidos para a determinação de 17 elementos (Ag, As, Au, Bi, Cd, Cu, Hg, In, K, Pb, Pd, Rb, Sb, Se, Te, Tl e Zn).

TARLEY & ARRUDA³⁹ utilizaram a TS-FF-AAS para a determinação de Cd em amostras biológicas. O Cd foi pré-concentrado em meio ácido (pH 2,0) a partir da formação de um complexo com DDTP (O,O-dietilditiofosfato de amônio), o qual foi posteriormente adsorvido em espuma de poliuretano (PUF, do inglês *Poliuretane Foam*) e eluído com uma solução de etanol (80% v v⁻¹). Diversos parâmetros foram avaliados neste trabalho, como o pH de formação do complexo Cd-DDTP, a concentração do agente complexante DDTP, a massa de adsorvente e a taxa de pré-concentração e eluição. Com esta proposta, foi possível utilizar volumes de amostra baixos, cerca de 2 mL, e aumentar a sensibilidade em 5 vezes em comparação a TS-FF-AAS convencional quando esta técnica foi acoplada ao método de pré-concentração. O limite de detecção de Cd obtido foi de 0,12 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Em comparação a FAAS o método empregado aumentou em 216 vezes o poder de detecção para o analito. A exatidão do método proposto foi avaliada empregando-se CRM's e a técnica de ETAAS.

A espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico foi empregada por NASCENTE et al.⁴⁰ para a determinação direta de Cu e Zn em amostras de leite bovino e suco de frutas. As amostras foram diluídas em água destilada e desionizada ou em solução de aminas terciárias solúveis em água (CFA-C). O sistema TS-FF-AAS foi otimizado e um volume de 300 μL da amostra foi introduzido no interior de um tubo atomizador. Foi utilizado HNO_3 0,014 mol L^{-1} como carregador a uma vazão de 0,4 mL min^{-1} . Os limites de detecção obtidos para Cu e Zn em solução aquosa foram de 2,2 e 0,91 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, e 3,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cu em meio de CFA-C. A exatidão do método empregado foi verificada por experimentos de adição e recuperação e com a utilização de CRM's. Os valores de recuperação obtidos para Cu e Zn variaram de 98 a 105%.

GONZÁLEZ et al.⁴¹ empregaram o sistema TS-FF-AAS para a determinação dos teores totais de Cd, Pb e Zn em amostras de águas, algas e sedimentos marinhos. Utilizaram volume de amostragem de 50 μL e a amostra foi transportada até o interior de um tubo atomizador de Inconel (liga metálica) por uma bomba peristáltica na vazão de 0,5 mL min^{-1} . Os limites de detecção determinados para Cd, Pb e Zn, utilizando matriz sintética de água do mar (2,5% m v^{-1} de NaCl, 0,5% m v^{-1} de MgCl_2 e 0,8% m v^{-1} de CaCl_2) foram de 0,32, 2,6 e 0,21 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. O método empregando o sistema TS-FF-AAS foi validado através da determinação de Cd, Pb e Zn em CRM's de água e sedimento marinho. O teste t realizado com intervalo de 95% de confiança, não apontou diferenças estatísticas significativas entre as concentrações de amostras de águas, porém, essas diferenças ocorreram para os sedimentos marinhos.

IVANOVA et al.⁴² desenvolveram um método simples e sensível para a determinação de Cd e Pb em nível de $\mu\text{g L}^{-1}$ e sub $\mu\text{g L}^{-1}$ através do acoplamento *online* de métodos de separação e pré-concentração com o sistema TS-FF-AAS. Utilizaram ar comprimido para direcionar a amostra através de uma coluna de 3 cm de C_{18} e, posteriormente, a amostra foi introduzida até o interior de um tubo atomizador de Ni. O agente quelante pirrolidinaditiocarbamato de amônio (APDC) foi imobilizado em uma coluna e foi utilizado metanol 60% v v^{-1} como eluente. Os limites

de detecção para Cd e Pb utilizando volume de amostra de 20 mL foram de 0,007 e 0,17 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. A combinação da pré-concentração com o sistema TS-FF-AAS possibilitou o aumento no poder de detecção de 1960 e 610 vezes para Cd e Pb, respectivamente, quando comparado ao sistema FAAS convencional.

PEREIRA et al.⁴³ desenvolveram um método para determinar Cd e Pb em amostras de água, empregando a TS-FF-AAS e utilizando um sistema de pré-concentração. Os analitos foram complexados com APDC com posterior adsorção em uma mistura de C_{60} e C_{70} em uma vazão de 2,0 mL min^{-1} . Os quelatos foram eluídos por uma solução de etanol 80% v v⁻¹ em uma vazão de 0,9 mL min^{-1} até o interior de um tubo atomizador de Ni. Com esta proposta os autores obtiveram aumento no poder de detecção, em comparação ao sistema convencional de FAAS, de 675 e 200 vezes para Cd (0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$) e Pb (2,4 $\mu\text{g L}^{-1}$), respectivamente. Os valores obtidos por TS-FF-AAS foram comparados com o uso da ETAAS, bem como o uso de CRM's. O teste-t não pareado, com 95% de confiança, demonstrou não haver diferenças estatísticas significativas entre os valores encontrados e certificados.

NASCENTES et al.⁴⁴ propuseram a determinação de Cu, Mn, Pb e Zn sem digestão prévia, em amostras de cervejas brasileiras empregando a TS-FF-AAS. O sistema foi otimizado e calibrado baseado no método das adições de padrão (SAM, do inglês, *Standard Addition Method*). 300 μL das amostras foram introduzidas no interior de um tubo atomizador de Ni na vazão do carregador (HNO_3 0,014 mol L^{-1}) de 0,4 mL min^{-1} . Para a determinação por TS-FF-AAS, as amostras foram previamente desgaseificadas em banho ultra-sônico. Utilizou-se a GFAAS como método comparativo. Os limites de detecção obtidos em solução aquosa para Cu, Mn, Pb e Zn foram de 2,2, 18, 1,6 e 0,9 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente e a faixa de concentração dos analitos nas amostras de cervejas foram 38,0 – 155 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Cu; 110 – 348 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Mn; 13,0 – 32,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Pb e 52,7 – 226 $\mu\text{g L}^{-1}$ para Zn.

LOBO et al.⁴⁵ desenvolveram um procedimento analítico para a determinação de Sn em soluções analíticas empregando a TS-FF-AAS como alternativa ao uso da chama óxido nitroso/acetileno em FAAS. Os autores otimizaram a vazão do carregador, o volume de injeção da amostra e a concentração de HCl. O limite de detecção obtido foi de 1,7 mg L^{-1} .

TARLEY & ARRUDA⁴⁶ determinaram íons Pb (II) em amostras de água e vegetais utilizando pré-concentração em fase sólida acoplada ao sistema TS-FF-AAS. Os íons Pb (II) foram complexados com DDTP em meio ácido e adsorvidos em uma mini coluna de espuma de poliuretano (PUF) e posteriormente eluídos por uma solução de etanol 80% v v⁻¹ até o interior de um tubo atomizador metálico. Variáveis químicas e variáveis associadas com os procedimentos de pré-concentração foram otimizadas através de experimentos univariados. Os melhores valores de pH e de concentração de DDTP foram 2,0 e 0,5% m v⁻¹, respectivamente, enquanto que as melhores vazões de pré-concentração e eluição foram 2,4 e 1,0 mL min⁻¹, respectivamente. O método foi operado com volumes de 2,0 mL de amostra sendo possível determinar íons Pb (II) em uma faixa linear de 5,2 a 300 µg L⁻¹. O limite de detecção e a frequência analítica obtidos foram de 1,5 µg L⁻¹ e 16 amostras h⁻¹, respectivamente.

BRANCALION & ARRUDA⁴⁷ avaliaram a decomposição de amostras de plantas medicinais com o emprego da radiação assistida por microondas utilizando mini frascos de polipropileno (PP) para a determinação de Cd. Os mini-frascos de PP foram adicionados em recipientes adequados e foram submetidos à radiação por equipamentos de microondas focalizado e com cavidade. No processo de otimização foram avaliadas a massa de amostra, pesada diretamente nos frascos, e volumes de reagentes. Após a digestão, volumes de 300 µL de amostra foram introduzidos no interior de um tubo atomizador de Ni impulsionadas por um carregador (etanol 80% v v⁻¹) com vazão de 1,0 mL min⁻¹. O limite de detecção determinado para o Cd foi de 0,9 µg L⁻¹. Amostras de CRM's foram utilizadas para averiguar a exatidão do método proposto. Não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre os valores certificados e encontrados ao nível de confiança de 95%.

BERNDT e PULVERMACHER⁴⁸ utilizaram a TS-FF-AAS para determinar Cd e Pb em diferentes tipos de pimentas e em CRM's. As amostras foram digeridas em meio de água régia (mistura de HNO₃ e HCl na proporção de 1:3) empregando-se chapa de aquecimento. Volumes de 200 µL de amostra foram introduzidos em um tubo atomizador de Ni. A faixa de concentração determinada para o Pb variou de 0,1 a 2 µg g⁻¹ e para o Cd de 0,005 a 3 µg g⁻¹. Os limites de detecção determinados para Cd e Pb foram 0,005 e 0,1 µg g⁻¹, respectivamente.

Não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os valores encontrados e os certificados em um intervalo de 95% de confiança.

TARLEY et al.⁴⁹ utilizaram sistema de injeção em fluxo (FIA, do inglês *Flow Injection Analysis*) acoplado a TS-FF-AAS para a pré-concentração e determinação de Cu em amostras de água. O Cu foi pré-concentrado sobre espuma de poliuretano complexada com DDTP, e, posteriormente eluído por uma solução 80% v v⁻¹ de etanol. Foi estabelecido um planejamento fatorial 2⁴ para otimizar o sistema de pré-concentração de Cu. Os resultados obtidos a partir do planejamento fatorial e baseados no gráfico de Pareto indicaram que somente o pH e a concentração de DDTP, bem como suas interações, exerceram influência sobre o sistema dentro de intervalo de 95% de confiança. O limite de detecção obtido para Cu foi de 0,22 µg L⁻¹.

A TS-FF-AAS foi empregada por DONATI et al.⁵⁰ para a determinação de Co em materiais biológicos. O efeito de diferentes agentes complexantes sobre a sensibilidade de Co foi avaliada através da formação de compostos voláteis do analito. Os autores empregaram a extração em meio ácido e pré-concentração por ponto nuvem. Co foi extraído quantitativamente, juntamente com o concomitante Fe, por tratamento com HCl 1,0 mol L⁻¹ e, em seguida, volumes de amostra de 150 µL foram introduzidos no interior de um tubo atomizador de Ni a uma vazão do carregador de 0,4 mL min⁻¹. Melhor sensibilidade foi obtida empregando APDC e Triton X-114 para a o procedimento de extração por ponto nuvem. O limite de detecção obtido para o Co foi de 2,1 µg L⁻¹, cerca de 670 vezes menor que os valores obtidos por FAAS convencional. CRM's de folha de tomate e fígado bovino foram utilizados para avaliar a exatidão do método proposto. Não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os valores encontrados e os certificados com a aplicação de um teste-t com nível de confiança de 95%.

PEREIRA et al.⁵¹ empregaram a espectroscopia de raios-X (XRS, do inglês *X-ray Spectroscopy*) para a determinação de Ca, K, Mg, Mn, Fe e Zn em amostras de chás sem pré-tratamento das amostras. A TS-FF-AAS foi utilizada como método comparativo para a determinação de Zn nas amostras de chás digeridas em bloco digestor.

Diferentes tubos atomizadores utilizados na TS-FF-AAS foram avaliados por PETRUCELLI et al.¹⁰ para a determinação de Cd, Cu, Mn, Pb e Zn em amostras de soluções aquosas, alimentos e ambientais. Os melhores desempenhos

foram observados para tubos atomizadores compostos por Ni 99% e Ti 99%. Para o tubo atomizador de Ti foi relatado um baixo tempo de vida útil, devido à formação de óxido de titânio na superfície externa do tubo. Foram realizadas análises por fluorescência de raios-X (XRF, do inglês *X-ray Fluorescence*) e micrografias eletrônicas de varredura (MEV, do inglês *Scanning Electron Microscopy*) dos tubos atomizadores testados. Os tubos atomizadores de Ni apresentaram menores diferenças morfológicas, sem afetar seu desempenho, quando comparados aos outros tubos atomizadores avaliados.

TARLEY et al.⁵² desenvolveram um método baseado no acoplamento de um sistema de pré-concentração em fluxo usando nanotubos de carbono, do tipo *multiwall*, como sorvente na determinação de Cd por TS-FF-AAS. O Cd foi pré-concentrado em um pH de 4,9 sobre uma mini coluna de 30 mg de nanotubos de carbono por 2 minutos a uma vazão de 5,0 mL min⁻¹. O Cd foi eluído utilizando HNO₃ 0,5 mol L⁻¹ e impulsionado para o sistema TS-FF-AAS. O limite de detecção obtido para Cd foi de 11,4 ng L⁻¹, cerca de 640 vezes menor quando comparado ao sistema FAAS convencional e semelhantes aos obtidos por PEREIRA et al.⁴³. Para averiguar a exatidão do método proposto os teores de Cd foram determinados realizando-se testes de adição e recuperação em amostras de águas e cigarros e, utilizando CRM's de materiais biológicos. O teste-t realizado ao nível de confiança de 95% não demonstrou diferenças estatísticas significativas entre os valores certificados e os valores determinados.

WU et al.⁵³ utilizaram a TS-FF-AAS para a determinação de ultra-traços de Cd em amostras de água e urina empregando extração por ponto nuvem. A solução contendo o analito foi misturada com APDC e Triton X-114 e após determinada temperatura, a fase rica formada foi separada do restante da solução e introduzida no sistema TS-FF-AAS. O limite de detecção obtido para o Cd foi de 0,04 µg L⁻¹. Os valores encontrados pelo sistema TS-FF-AAS foram semelhantes aos valores observados quando foi utilizada a técnica de ICP-MS.

Em outro trabalho, MATOS & ARRUDA⁵⁴ desenvolveram um método para a determinação de Cd em CRM's de centeio, farinha e pão integral. O Cd foi pré-concentrado em uma mini-coluna contendo bagaço de uva e, posteriormente eluído com HCl 1 mol L⁻¹. O limite de detecção obtido para Cd foi de 0,03 µg L⁻¹ e o teste-t realizado em um intervalo de 95% de confiança não estabeleceu diferenças estatísticas significativas entre os valores certificados e os valores encontrados.

LOBO et al.⁵⁵ utilizaram a TS-FF-AAS para a determinação de Sn em soluções aquosas empregando tubos atomizadores de Ni e cerâmicos (Al_2O_3). A vazão do carregador, o volume de injeção e a concentração de HCl foram otimizadas neste trabalho. Os valores obtidos para soluções de Sn foram 2 e 5 vezes mais sensíveis com o uso de tubos atomizadores metálico e cerâmico, respectivamente, em comparação ao método convencional FAAS que faz uso de chama acetileno / óxido nitroso.

AMORIM & BEZERRA⁵⁶ desenvolveram um método para pré-concentração e determinação de Cd em amostras de repolho e pó de guaraná utilizando a TS-FF-AAS. O método proposto foi baseado na extração de Cd em fase sólida em mini coluna de Amberlite XAD-2, impregnada com 2-(2-tiazolilazo)-5-dimetilaminofenol (TAM) e posterior eluição dos íons Cd em HCl 1,0 mol L⁻¹. O acoplamento do sistema de pré-concentração com o sistema TS-FF-AAS possibilitou alcançar limite de detecção de 8,0 ng L⁻¹. A exatidão do método foi confirmada pela análise de diferentes CRM's.

A TS-FF-AAS foi empregada por PETRUCELLI et al.⁵⁷ para a determinação de Cd e Pb em amostras de suspensões de lodo de esgoto. O sistema TS-FF-AAS foi equipado com tubo atomizador de Ni posicionado sobre a chama oxidante de ar / acetileno. Dois modelos de calibração multivariada baseado na regressão por mínimos quadrados parciais (PLS, do inglês *Partial Least Squares*) foram propostos usando o perfil total dos picos (registrados por 57 s). As concentrações encontradas dos metais na suspensão de lodo de esgoto variaram de 1,87 a 6,26 mg kg⁻¹ para Cd e de 101 a 327 mg kg⁻¹ para Pb. Os limites de detecção determinados foram de 0,2 e 8,0 µg kg⁻¹ para Cd e Pb, respectivamente. Estes valores encontrados por PLS foram três vezes menores em relação à calibração linear com padrão de soluções aquosas.

Estudos sobre o comportamento do Se em TS-FF-AAS foram realizados por ROSINI et al.⁵⁸. Os autores otimizaram o tipo de composição da chama, o tipo de carregador e a altura do tubo atomizador sobre o queimador. O analito foi determinado em materiais biológicos após digestão assistida por microondas. O sinal de Se foi avaliado na presença dos concomitantes Ca, K, Mg e Na empregando a FAAS e a TS-FF-AAS, sendo esta última mais susceptível a maiores interferências na presença dos concomitantes. Volumes de 600 µL das amostras foram introduzidos no interior de tubos atomizadores de Ni a uma vazão do

carregador de $0,4 \text{ mL min}^{-1}$. O limite de detecção obtido para o Se foi de $8,7 \mu\text{g L}^{-1}$, cerca de 95 vezes mais sensível em comparação ao sistema de FAAS convencional. A aplicabilidade do procedimento foi avaliada utilizando CRM's. O teste-t realizado ao nível de confiança de 95% mostrou não haver diferenças estatísticas significativas entre os valores certificados e os valores encontrados.

BRANCALION et al.⁵⁹ descreveram pela primeira vez o mecanismo da formação do aerossol térmico, em baixas vazões, usando uma bomba peristáltica em TS-FF-AAS. O estudo teve como base a obtenção de imagens do aerossol formado dentro do tubo atomizador por uma câmera de alta velocidade. As imagens do aerossol obtidas em diferentes tempos revelaram que o aerossol formado nas condições de estudo era ligeiramente diferente das reportadas por GÁSPAR & BERNDT⁹. Segundo os autores, a forma como o aerossol evolui indica que o efeito Leidenfrost representa uma importante condição para propor o mecanismo de formação do aerossol. Quando a amostra impulsada pelo carregador entra em contato com a parede quente do capilar, uma película de vapor é formada ao redor das gotículas, evitando o contato da amostra restante com a parede aquecida, fazendo com que a evaporação se torne mais lenta. A aquisição das imagens demonstrou que as algumas gotas permaneciam dentro do tubo atomizador, não evaporando instantaneamente.

LEMOS et al.⁶⁰ utilizaram a TS-FF-AAS para a determinação de Cd, Cu e Zn em amostras biológicas. O procedimento foi baseado na extração em fase sólida desses analitos sobre uma resina modificada com ácido 3,4-dihidroxibenzóico (XAD4-DHB) e posterior eluição com HNO_3 até o interior de um tubo atomizador de Ni. Os limites de detecção determinados para Cd, Cu e Zn foram 28, 100 e 77 ng L^{-1} , respectivamente, com tempo de pré-concentração de 60s. Os resultados analíticos obtidos na determinação de Cd, Cu e Zn para as amostras de CRM's foram concordantes com os valores certificados, no intervalo com 95% de confiança.

WU et al.⁶¹ desenvolveram um procedimento para a determinação de traços de Ag em amostras de solo, sedimento marinho e minério utilizando a TS-FF-AAS. O método empregado envolveu duas etapas para a extração por ponto nuvem. Os íons Cu^{2+} reagiram com dietilditiocarbamato de sódio (NaDDTC) para formar o complexo Cu-DDTC antes da extração e, em seguida, após a remoção da fase aquosa, uma amostra ou um padrão contendo íons Ag^+ foi adicionada e nova extração por ponto nuvem foi realizada. Devido à maior estabilidade do complexo

Ag-DDTC em relação ao complexo Cu-DDTC, os íons Ag^+ substituíram os íons Cu^{2+} do complexo pré-extraído de Cu^{2+} , pré-concentrando, separando os íons Ag^+ da matriz complexa e introduzindo a solução no sistema TS-FF-AAS. O limite de detecção determinado para a Ag foi de $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$, valor este cerca de 20 vezes menor em comparação aos métodos de extração por ponto nuvem empregando a FAAS convencional.

MATOS & ARRUDA⁶² desenvolveram estratégias de derivatização para aumentar a sensibilidade na determinação de Co utilizando a TS-FF-AAS. Para isso, foram gerados compostos voláteis de Co para aumentar a eficiência na vaporização das amostras. Neste trabalho foram otimizados o uso de DDTC como agente complexante, a faixa de pH mais adequada para a formação do complexo Co-DDTC, a concentração e o volume do complexo, a composição da chama e a configuração do tubo atomizador de Ni. A faixa linear utilizada variou de $23 \mu\text{g L}^{-1}$ a 3mg L^{-1} . O limite de detecção obtido foi de $7 \mu\text{g L}^{-1}$, valor aproximadamente 17 vezes menor quando foi utilizado o sistema FAAS convencional. A exatidão do método proposto foi avaliada através da análise de CRM's. Os valores obtidos foram concordantes com os valores certificados ao nível de confiança de 95%, não havendo, portanto, diferenças estatísticas significativas entre os resultados.

SCHIAVO et al.⁶³ utilizaram a TS-FF-AAS para a determinação direta de Cu, Cd e Pb em amostras de vinhos e sucos de uva sem etapas preliminares de digestão ácida. Foram introduzidos $150 \mu\text{L}$ da amostra em um tubo de Ni a uma vazão do carregador HNO_3 $0,014 \text{ mol L}^{-1}$ de $0,54 \text{ mL min}^{-1}$. O efeito da concentração de etanol foi estudado sobre os sinais analíticos de Cu, Cd e Pb, bem como o tipo de configuração do tubo atomizador de Ni (com 6 orifícios e sem orifício). Maiores sensibilidade foram obtidas em soluções de etanol $2\% \text{ v v}^{-1}$ com tubos atomizadores de Ni de 6 orifícios. Os limites de detecção determinados para Cu, Cd e Pb nas amostras de vinho foram, respectivamente, $12,9$, $1,8$ e $5,3 \mu\text{g L}^{-1}$. Para averiguar a exatidão do método foram realizados experimentos de adição e recuperação, em virtude da baixa concentração dos analitos presentes nas amostras. Os valores de recuperação para Cu, Cd e Pb variaram de 90 a 113%, 93 a 118% e 88 a 109%, respectivamente. Para a maioria das amostras os teores encontrados estavam dentro da faixa permitida pelos órgãos de fiscalização.

COELHO et al.⁶⁴ propuseram um procedimento de pré-concentração por ponto nuvem empregando 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) como complexante e

Triton X-114 como surfactante para a determinação seqüencial multielementar de Cd, Cu e Pb por TS-FF-AAS em amostras de água mineral. Neste trabalho os parâmetros otimizados foram o pH, a concentração do tampão e o volume da solução de NaCl a 1% v v⁻¹. Os limites de detecção obtidos para Cd, Cu e Pb, foram respectivamente, 0,025, 0,38 e 0,43 µg L⁻¹. A exatidão do método foi verificada com a utilização de CRM's e os valores certificados foram concordantes com os valores determinados em nível de confiança de 95%.

SCHIAVO & NÓBREGA⁶⁵ estudaram os efeitos causados na presença dos concomitantes Ca, K, Mg e Na sobre a atomização do Co e Mn empregando a TS-FF-AAS. Os concomitantes e as concentrações escolhidas estavam relacionados com os teores desses analitos encontrados em amostras de alimentos e bebidas. Severos efeitos dos interferentes foram observados para ambos os analitos estudados, valores variando de -101 a 360% e -117 e 175% para Co e Mn respectivamente. De acordo com os autores, os valores de interferência encontrados demonstram uma situação que ocorre com freqüência em análises espectroquímicas, ou seja, quanto maiores os esforços para conseguir introduzir maiores volumes de amostra, maiores as interferências e, conseqüentemente, maior a necessidade de empregar etapas de separação ou estratégias especiais para calibração.

DA-COL et al.⁶⁶ propuseram diferentes métodos para a determinação de Cd, Fe, Pb e Zn em suplementos alimentícios. Fe e Zn foram determinados empregando a FAAS e Cd e Pb empregando a TS-FF-AAS. As amostras foram tratadas com HCl 0,1 mol L⁻¹ para extração dos analitos e foi realizado um planejamento fatorial fracionário 2⁷⁻³ num total de 16 experimentos para otimização do procedimento de extração. Todas as etapas foram otimizadas para o analito Zn em amostras de suplementos liofilizadas. Os parâmetros variados foram: massa de amostra (0,1 e 0,2 g), volume do ácido (5 e 10 mL) e concentração do ácido (0,1 e 1,0 mol L⁻¹) e tipo de ácido (HNO₃ e HCl), tipo de extrator (vórtex e ultra-som), tempo de extração (5 e 10 min) e filtração (com e sem filtração). Posteriormente foi avaliado o efeito do tamanho de partícula sobre o sinal de Zn utilizando amostras de arroz e vegetais. O sistema TS-FF-AAS foi otimizado utilizando volume de amostra de 200 µL, vazão do carregador HNO₃ 0,014 % v v⁻¹ de 0,5 mL min⁻¹ e tubo atomizador de Ni. Os limites de detecção obtidos para Cd, Pb e Zn empregando o sistema TS-FF-AAS foram 0,6, 6 e 32 µg L⁻¹, respectivamente para amostra de CRM de fígado

bovino. O teste-t realizado mostrou não haver diferenças estatísticas significativas no intervalo de confiança de 95%.

3.4. Tubos atomizadores em espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico

Durante o desenvolvimento e o aperfeiçoamento da TS-FF-AAS, já foram propostos diferentes tipos de tubos atomizadores, com várias configurações para a determinação dos analitos de interesse. Desde a proposta inicial por GÁSPÁR & BERNDT⁹ o Ni foi o tubo atomizador mais utilizado pela maioria dos trabalhos focando a TS-FF-AAS^{9, 10, 37-52, 54-66}, possivelmente devido ao baixo custo do metal, às características físicas e químicas, facilidade de encontrá-lo na forma de tubo e o elevado tempo de vida útil. Alguns trabalhos utilizaram tubos atomizadores de material cerâmico^{8-10, 55}, ligas metálicas^{8, 9, 10, 36, 39, 52}, quartzo⁵³ e Ti¹⁰, porém os sinais analíticos obtidos para a maioria dos analitos testados foram semelhantes aos obtidos quando foram utilizados tubos atomizadores de Ni.

Os trabalhos com tubos atomizadores cerâmicos^{8-10, 55}, constituídos principalmente por Al₂O₃ relatam problemas com a baixa durabilidade do material e no gradiente de temperatura ao longo do tubo. Além disso, à medida que aumenta o tempo de uso, o material se torna poroso ocorrendo adsorção do analito e provocando efeito de memória.

Não foram relatados ganhos analíticos significativos quando tubos atomizadores de Ni foram substituídos por tubos constituídos por ligas metálicas^{8, 9, 10, 36, 39, 52}. Ambos os tubos possuem elevado tempo de vida útil. Porém, a facilidade na utilização e o menor custo do tubo de Ni tornam a escolha por este material mais viável.

Apenas um trabalho relata a utilização de tubos atomizadores de Ti em TS-FF-AAS¹⁰. Petrucelli et al. utilizaram tubos de diferentes materiais e configuração. Segundo os autores o tubo de Ti apresentou resultados extremamente otimistas para soluções contendo Cu e comportamento semelhante para os outros analitos (Cd, Pb e Zn) quando comparado ao tubo atomizador de Ni. Foi observada a formação de uma película esbranquiçada sobre as superfícies externa e interna do

tubo de Ti com conseqüente ganho de massa e posterior fragilização deste tubo atomizador.

A Tabela 3.4.1. relata os tipos de tubos atomizadores já avaliados empregando a TS-FF-AAS.

Tabela 3.4.1. Tubos atomizadores empregando a TS-FF-AAS

Tubo atomizador	Observação	Referência
Ni	Determinação de metais em materiais biológicos, plantas, bebidas, alimentos e outros	9, 10, 37-52, 54-66
Liga metálica (74% Ni, 16% Cr, 9% Fe)	Determinação de Cd, Cu, Tl, Pb e Hg	8, 9, 36
Ni e liga metálica	Determinação de Ag, As, Au, Bi, Cd, Cu, Hg, In, K, Pb, Pd, Rb, Sb, Se, Te, Tl e Zn	38
Cerâmico (Al ₂ O ₃)	Determinação de Cd, Cu, Tl, Pb e Hg; efeito de memória (porosidade)	8,9
Quartzo	Baixa condutividade, grandes diferenças de temperatura entre a região interna e externa do tubo atomizador	8,9
Quartzo	Determinação de Cd em água e urina, extração por ponto nuvem	53
Ni, liga metálica, Cerâmico e Ti	Ni (99%), Ti (99,8%), cerâmico (Al ₂ O ₃ (95,2%)) e ligas metálicas (Ni 63%), Cr, Mo, Cu, Fe, Ti e W) ou (Ni (77,1%), Cr, Fe e Ti) → Determinação de Cd, Cu, Mn, Pb e Zn	10

3.5. Preparo de amostra

Em um laboratório, a amostra a ser analisada deve ser submetida a tratamentos adequados para que os analitos de interesse possam ser determinados. Muitas vezes esse tratamento pode envolver a transformação da amostra sólida em uma solução compatível com o método de determinação. O tipo de decomposição da amostra para posterior análise depende de sua natureza, do analito de interesse, de sua concentração, do método de determinação, e da precisão e exatidão necessárias. A determinação de um analito é bastante complexa, e em diversas ocasiões pode exigir uma série de etapas, como: definição do problema; escolha do

método; amostragem; pré-tratamento da amostra e separação; medida; calibração; avaliação e ação. Dentre todas as etapas citadas, a etapa de pré-tratamento da amostra é a mais crítica, sendo responsável pelos maiores erros associados à análise, pelo maior tempo demandado e pelo maior custo. Nesta etapa ocorre maior probabilidade de contaminação devido ao grande manuseio das amostras, portanto, é uma das etapas que exige maior atenção⁶⁷.

3.5.1. Decomposição assistida por radiação microondas

Na década de 70 foram realizados os primeiros experimentos que empregavam radiação microondas (MW) para a decomposição de amostras de tecidos animais e vegetais utilizando fornos de microondas domésticos e frascos abertos. Inicialmente foi relatada uma diminuição do tempo de decomposição das amostras em comparação aos procedimentos convencionais que empregavam chapas ou bloco digestores, porém esse tipo de equipamento era inadequado para trabalhos em ambientes agressivos. Além disso, não havia muito interesse no emprego deste tipo de radiação porque os sistemas de aquecimento convencionais da época tinham bom desempenho. No final da década de 80 a decomposição assistida por radiação microondas teve seu interesse renovado, principalmente com trabalhos referentes à decomposição de amostras ambientais, alimentos, ligas, óleos, metais, minerais e outros⁶⁷.

Atualmente esta tecnologia não está presente somente em química analítica, mas também em sínteses orgânicas, reações inorgânicas, preparação de catalisadores e outros campos, porém apenas 10% dos laboratórios mundiais estão equipados com fornos de microondas. A maioria dos experimentos é realizada utilizando sistemas de microondas com cavidade ou microondas focalizada⁶⁸.

As microondas são ondas energéticas eletromagnéticas que cobrem uma faixa de frequência do espectro eletromagnético que varia de 300 a 300000 MHz, porém os fornos de microondas comerciais, fabricados para uso doméstico ou para laboratórios, empregam microondas com frequência de 2450 MHz, gerando potências maiores que 600 W. Os dispositivos empregados nos equipamentos de

microondas com cavidade e focalizados diferem um pouco, mas ambos possuem magnetron, responsável pela produção da radiação microondas e um guia de ondas, responsável por direcionar as ondas até os recipientes adequados^{67, 69}.

Nos fornos com MW com cavidade, além do magnetron e do guia de ondas, existe um distribuidor de ondas, que “espalha” as ondas por toda a cavidade do equipamento, uma bandeja rotatória, que permite expor a amostra a uma radiação homogênea e reproduzível e frascos de decomposição. O material e a quantidade de frascos variam de acordo com o fabricante e com o interesse do analista. Os frascos devem ser transparentes a radiação MW, de forma que a radiação seja absorvida apenas pela solução do meio reacional. Os materiais mais empregados para fabricação dos frascos são o PTFE (Teflon®), PFA (perfluoroalcoxi), TFM® (Teflon modificado) e quartzo⁶⁷. Recipientes fechados para a decomposição com MW são recomendados em necessidades de altas temperaturas para a dissolução de amostras de difícil decomposição e na determinação de elementos voláteis. Algumas vantagens são descritas no uso de MW em sistemas fechados em comparação ao uso de MW em sistemas com radiação focalizada, também chamados de sistemas abertos. Entre elas, a maior eficiência na decomposição em altas temperaturas; reduzidos riscos de contaminação no ambiente de trabalho; reduzido riscos de perdas de analitos por volatilização e menor consumo de reagentes de alta pureza^{67, 69}.

Quando um material está em contato com a radiação MW podem ocorrer três tipos de interações com a onda eletromagnética, entre eles, reflexão, quando o material reflete as MW sem ser afetado pelas mesmas; transparência, quando as MW atravessam o material sem provocar nenhum efeito sobre o mesmo e absorção, quando o material absorve total ou parcialmente a radiação MW. Em materiais não transparentes a radiação MW, pode ocorrer fenômenos de migração iônica e rotação de dipolos que provocam aumento significativo em sua temperatura. Esses fenômenos ocorrem quando as MW interagem com a solução de um ácido usado para decompor a amostra de interesse⁶⁷. Na migração iônica, o movimento dos íons é causado pela interação do campo elétrico oscilante da radiação MW com as espécies iônicas. Os íons se deslocam e à medida que aumenta o movimento dos íons, a temperatura do sistema também aumenta. Todos os íons constituintes de uma molécula contribuem no processo de aquecimento, dependendo de sua concentração e de sua mobilidade no meio, sendo esta última dependente do

tamanho, da carga, da condutividade e da temperatura do íon^{67, 69}. Basicamente, se um campo elétrico é aplicado, as moléculas com dipolo elétrico tendem a se alinhar com o campo e se, posteriormente o campo elétrico for desativado ocorre relaxação dielétrica e as moléculas que absorveram MW liberam esta energia na forma de calor⁶⁹. Já a rotação de dipolo está relacionada ao efeito que o campo elétrico oscilante que tem origem nas radiações MW provoca nas moléculas que possuem dipolos, alinhando os dipolos da molécula com os pólos do campo elétrico⁶⁷.

Os trabalhos empregando radiação MW são relativamente mais rápidos, eficientes e seguros quando comparados aos métodos de aquecimento convencional. Outra vantagem, quando são utilizados recipientes fechados, é a minimização de perdas de analitos por volatilização e a possibilidade de utilizar pequenos volumes de reagentes para tornar uma solução apropriada para análise. Diversas amostras já foram preparadas por radiação assistida por MW, como amostras de alimentos, águas, geológicas, metalúrgicas, polímeros, biológicas, entre outras⁷⁰.

Uma proposta interessante é a utilização de ácidos diluídos para a decomposição das amostras empregando radiação MW. O tipo e a quantidade de ácidos são parâmetros essenciais para assegurar boa eficiência de decomposição. Devido à facilidade de manipulação e purificação e a capacidade de oxidar compostos orgânicos em amostras biológicas^{71, 72}, o H₂O₂ 30% v v⁻¹ é bastante utilizado como agente oxidante auxiliar durante o procedimento de decomposição assistida por MW⁷².

ARAÚJO et al.⁷¹ avaliaram a eficiência da digestão ácida assistida por MW na decomposição de plantas empregando diferentes concentrações de HNO₃ (2,0, 3,0, 5,0, 7,0 e 14 mol L⁻¹) e H₂O₂ 30% v v⁻¹ através da determinação do teor de carbono residual utilizando ICP OES com configuração axial. Concentrações ácidas de 2,0 mol L⁻¹ mostraram-se eficientes para a decomposição das amostras. Os resíduos orgânicos resultantes dessas decomposições foram analisados por ressonância magnética nuclear (RMN) e, em virtude da elevada temperatura no interior dos frascos fechados, um ambiente oxidante é formado mesmo em soluções ácidas diluídas. Os espectros resultantes de decomposições em HNO₃ 2,0 mol L⁻¹ foram mais simples do que em HNO₃ 14,0 mol L⁻¹, dando indícios que o emprego de ácido concentrados resultam em reações de oxidação aleatórias, decorrentes da formação de produtos mais complexos.

3.6. Cobre

Similarmente a diversos elementos-traço, o Cu alimentar é afetado pela concentração do Cu no solo, sendo a concentração de Cu em plantas e animais influenciada pelas condições locais⁷³. O Cu apresenta funções orgânicas específicas por ser constituinte de enzimas que estão relacionadas aos processos de oxidação e redução, como citocromo-c oxidase, dopamina β -hidroxilase e ceruloplasmina, por exemplo. As mais recentes discussões sobre o Cu na nutrição humana são ligadas ao envolvimento deste no metabolismo do esqueleto, no sistema imunológico e na prevenção de doenças cardiovasculares⁷⁴.

Dois erros congênitos raros estão relacionados à deficiência e ao excesso de Cu no metabolismo, a síndrome de Menkes e a doença de Wilson, respectivamente. Na síndrome de Menkes há um defeito na absorção intestinal de Cu provocando deficiência funcional grave. Já na doença de Wilson, há um defeito na excreção do Cu pela bile, ocasionando maior acúmulo nos tecidos⁷⁴.

O conteúdo corporal de Cu é de aproximadamente $1,7 \mu\text{g g}^{-1}$ de tecido livre de gordura em adultos e 2,5 vezes maior em crianças recém-nascidas, sendo encontrado em maiores concentrações no coração, cérebro, fígado e rins. A biodisponibilidade de Cu pode variar dependendo da forma com que o alimento é processado. Os tratamentos químicos que estão relacionados com os processos de oxidação e redução podem diminuir e afetar a biodisponibilidade de Cu, bem como a trituração e o tratamento térmico dos alimentos. Sendo assim, é possível adicionar aos alimentos sais de cobre altamente biodisponíveis, como acetato, cloreto, sulfato e carbonato⁷⁴. Fontes de proteínas, aminoácidos, carboidratos, fitatos, Zn e Fe, estão associados com a biodisponibilidade do Cu^{73, 74}.

O Cu está amplamente distribuído nos alimentos, sendo suas principais fontes, fígado, ostras, castanhas, chocolates e outros. A ingestão recomendada para um indivíduo saudável é de 1,2 mg/dia, teor este variável com a faixa etária⁷⁴. Entretanto, a ingestão de quantidades elevadas de sais de Cu pode causar intoxicação aguda e crônica. Em caso de intoxicação aguda, podem ocorrer náuseas, vômitos, queimação epigástrica, sangramento gastrointestinal, diarreia, necrose hepática, taquicardia, convulsões e coma e em caso de intoxicação crônica, cirrose hepática e problemas neurológicos⁷⁴.

Capítulo 4

MATERIAIS E MÉTODOS

4. Materiais e Métodos

4.1. Equipamentos e acessórios

As determinações de Cu foram efetuadas em um espectrômetro de absorção atômica com chama, modelo AA 640 (Varian, Mulgrave, Austrália) equipado com lâmpada de deutério para correção do sinal de fundo e lâmpada de catodo oco (HCL, do inglês *Hollow Cathod Lamp*) como fonte de radiação. A Tabela 4.1.1. apresenta os parâmetros instrumentais utilizados de acordo com a recomendação do fabricante.

Tabela 4.1.1. Parâmetros instrumentais utilizados na determinação de Cu por FAAS e TS-FF-AAS

Parâmetros	Condição utilizada
Comprimento de onda (nm)	327,4
Fenda espectral (nm)	0,5
Corrente da lâmpada (mA)	5,0
Vazão de ar (L min ⁻¹)	13,5
Vazão de acetileno (L min ⁻¹)	2,0

Para a pesagem das amostras foi utilizada uma balança analítica OHAUS, modelo AS 200 (Ohaus Corporation, Florham Park, NJ, EUA) e para a decomposição das amostras foi empregado um forno de microondas com cavidade (ETHOS 1600, Milestone, Itália) equipado com rotor com capacidade para 20 frascos de reação de quartzo.

As micrografias dos tubos atomizadores foram adquiridas com auxílio de um microscópio eletrônico de varredura Philips, modelo XL-30 FEG, Holanda, com feixes de elétrons incidentes de 20 kV. Também foi empregada a técnica de difratometria de raios-X para o estudo da composição dos tubos de Ti novos e usados com auxílio de um difratômetro de raios-X Rigaku, modelo DMax 2500 PC, Japão, com voltagem de aceleração eletrônica de 40 kV.

4.2. Sistema TS-FF-AAS

O sistema TS-FF-AAS foi montado de acordo com a Figura 4.2.1.

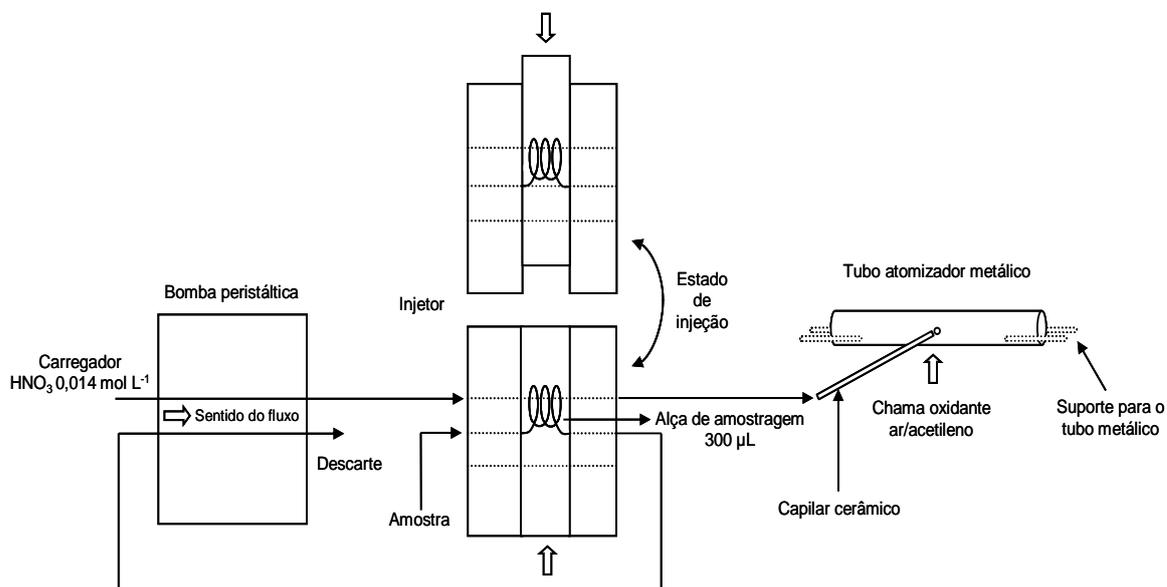


Figura 4.2.1. Representação da montagem do sistema TS-FF-AAS, composto por bomba peristáltica, injetor comutador, capilar cerâmico e tubo atomizador

A Figura 4.2.1. permite a visualização do acoplamento de um sistema em fluxo com a técnica de FAAS, formando o sistema TS-FF-AAS. O sistema em fluxo empregado consiste dos seguintes materiais e acessórios:

- bomba peristáltica de 8 canais (Ismatec, Labortechnik Analytik, Glattbrugg-Zürich, Suíça);
- injetor comutador confeccionado em acrílico;
- tubos de Tygon (marca ColeParmer) com diâmetros de 1,14 e 1,37 mm de diâmetro interno (d.i.) e tubos de polipropileno com 0,75 mm d.i.;

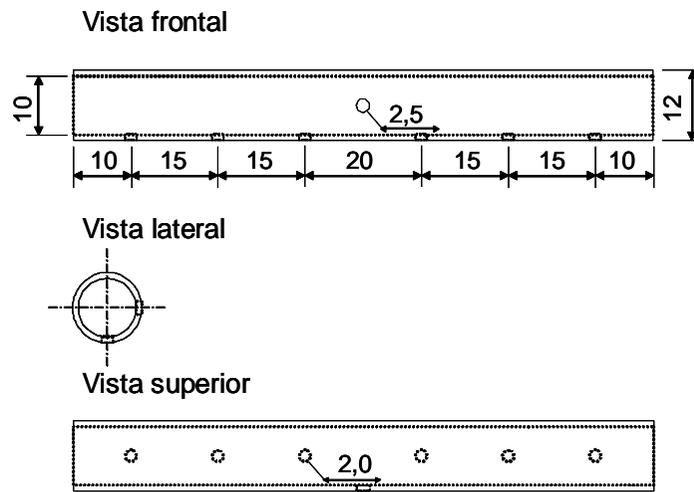
Para o posicionamento do tubo metálico sobre o queimador foi utilizado um suporte de aço inoxidável composto por quatro pinos cerâmicos. Para a formação do aerossol foi utilizado um capilar cerâmico não-poroso de Al_2O_3 (Friatec, Mannheim, Alemanha) com 10 cm de comprimento, 0,5 cm d.i. e 2,0 cm de diâmetro externo (d.e.).

Neste trabalho foram avaliados diversos tubos atomizadores de Ni e Ti de configurações distintas. Os tubos foram posicionados sobre o suporte de aço inoxidável de forma que os feixes de radiação emitidos pelas lâmpadas de cátodo oco e de deutério atravessassem todo o seu interior.

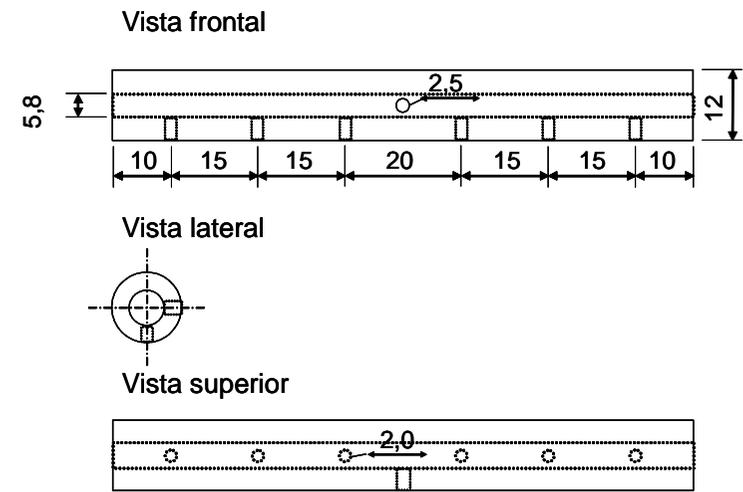
Todas as configurações dos tubos atomizadores propostos estão esquematizados nas Figuras 4.2.2. e 4.2.3.

A Figura 4.2.2 (a) apresenta os tubos atomizadores de Ni, Inconel e Ti com 6 orifícios na parte inferior que entra em contato com a chama do espectrômetro, todos com 100 mm de comprimento, 12 mm d.e. e 10 mm d.i. (chamados nesta dissertação por Ni6, Inconel e Ti6, respectivamente). Todos os tubos possuíam um orifício de 2,5 mm para introdução do capilar cerâmico. Outra configuração para um tubo atomizador de Ni da Figura 4.2.2 (b), com 100 mm de comprimento, 12 mm d.e. e 5,8 mm d.i. foi avaliada (chamado de Ni_{espesso}). Os demais tubos Figura 4.2.2. (c), (d) e (e) eram constituídos por Ti. Os tubos (c) e (d) possuíam 12 mm d.e. e 8 mm d.i. diferindo apenas no número de orifícios, respectivamente, 5 e 4 (chamados por Ti5 e Ti4, respectivamente). O tubo (e) possui as mesmas dimensões dos tubos da Figura 4.2.2. (c) e (d), porém no lugar dos orifícios possuía uma ranhura de 75 mm de comprimento com 2 mm de espessura (chamado por Ti_{chanfrado}).

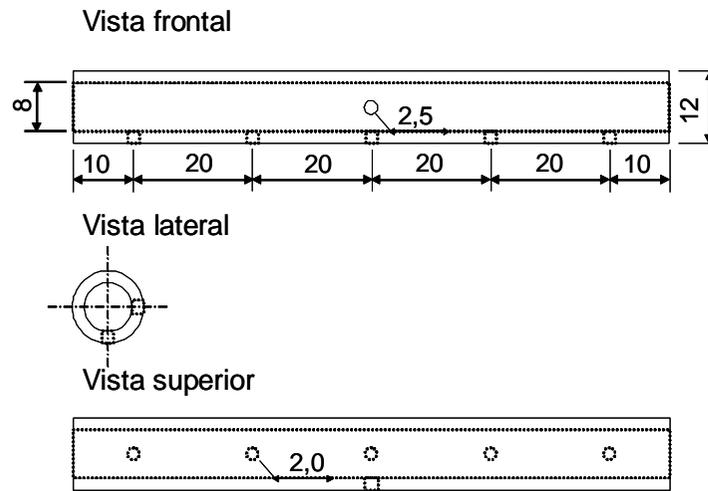
Já os tubos da Figura 4.2.3 (a), (b) e (c) são menores (menor comprimento) e mais finos (menor d.e.) que os citados anteriormente e foram avaliados inseridos dentro de tubos de Ni6 (Figura 4.2.2 (a)). É essencialmente necessária a coincidência dos orifícios dos tubos de Ni e Ti para que haja penetração da chama e inserção do capilar cerâmico. O tubo (a) possui 40 mm de comprimento, com 9,8 mm d.e. e 5,8 mm d.i. e abertura inferior de 30 mm de comprimento com 2,0 mm de espessura (chamado por Ti1 isoladamente e Ni/Ti1 quando inserido dentro do tubo de Ni6). O tubo (b) possui 70 mm de comprimento, com 9,8 mm d.e. e 5,8 mm d.i. e abertura inferior de 55 mm de comprimento com 2 mm de espessura (chamado por Ti2 isoladamente e Ni/Ti2 quando inserido dentro do tubo de Ni6). O tubo (c) possui configuração semelhante ao tubo (b), porém com d.i. de 7,8 mm (chamado por Ti3 isoladamente e Ni/Ti3 quando inserido dentro do tubo de Ni6).



(a)



(b)



(c)

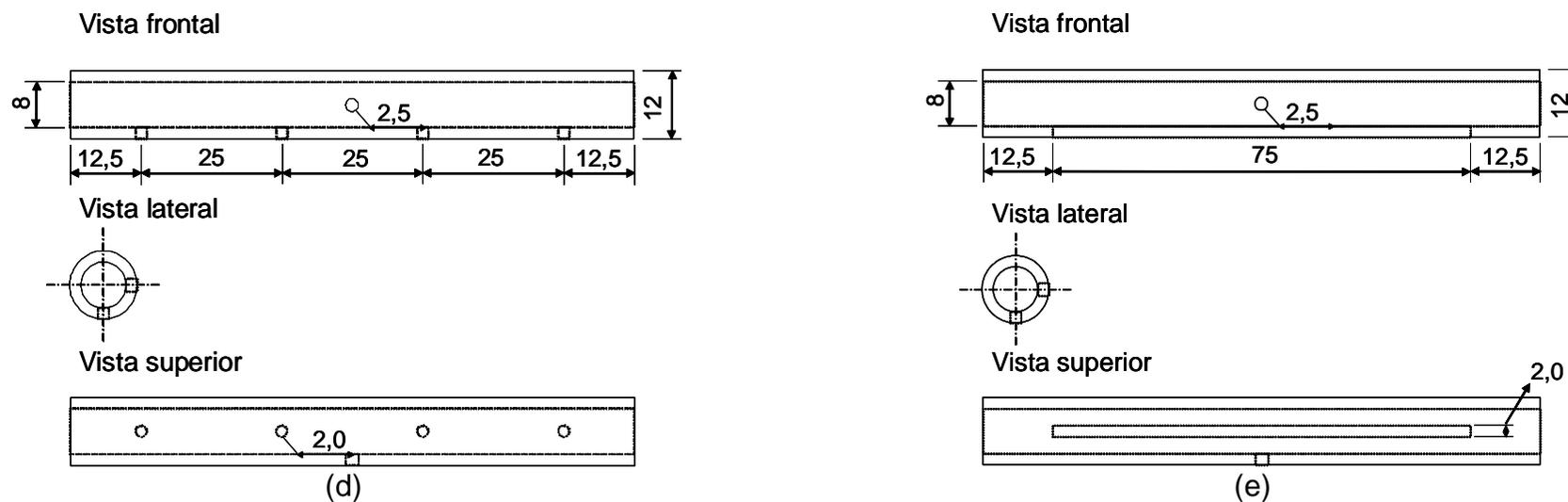


Figura 4.2.2. Configurações dos tubos atomizadores de Ni (a e b), Ti (a, c, d e e) e Inconel (a) usados no trabalho. Todas as dimensões estão indicadas em mm. Em cada Figura são mostradas as vistas frontal, lateral e superior.

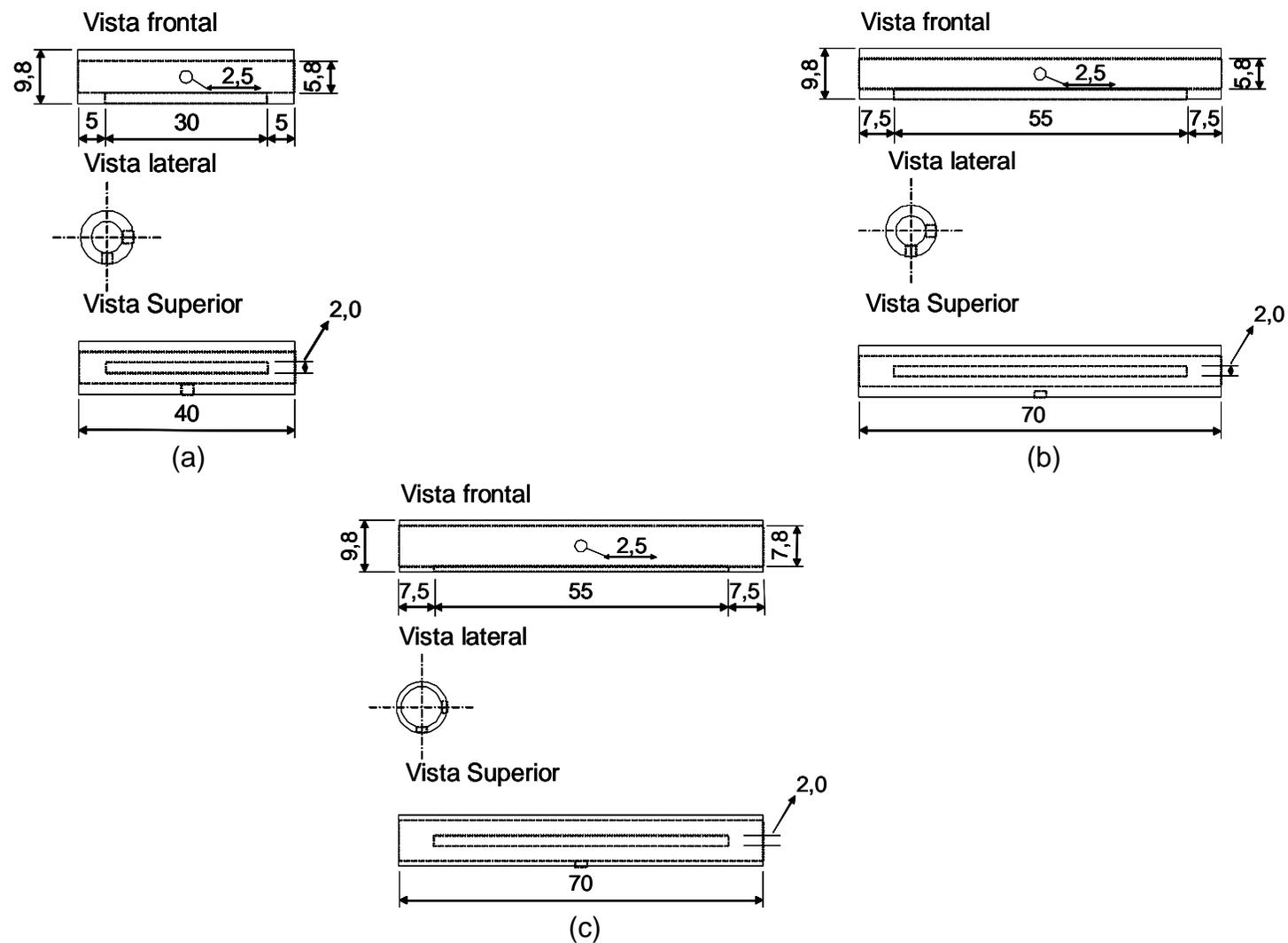


Figura 4.2.3. Configurações dos tubos atomizadores Ti que foram inseridos dentro de tubos de Ni (ver Figura 4.2.2.(a)) usados no trabalho. Todas as dimensões estão indicadas em mm. Em cada Figura são mostradas as vistas frontal, lateral e superior.

Os tubos atomizadores de Ni e Ti foram adquiridos junto à empresa CAMACAM, SP, Brasil. A composição dos tubos metálicos⁷⁵ e algumas propriedades físicas⁷⁶ dos átomos de Ni e Ti são apresentadas nas Tabelas 4.2.1. e 4.2.2, respectivamente.

Tabela 4.2.1. Composição (% m m⁻¹) dos tubos atomizadores de Ni e Ti ⁷⁵

Tubo atomizador	Composição (% m m ⁻¹)			
	Ni	Cr	Fe	Cu
Ni	99,1	-	0,4	0,25
Inconel	77,1	15,0	7,5	0,3
Ti	99,8	-	0,2	-

Tabela 4.2.2. Propriedades físicas dos átomos de Ni e Ti ⁷⁶

Propriedade física	Átomos	
	Ni	Ti
Densidade (g cm ³)	8,9	4,5
Calor específico (Cal g ⁻¹ °C ⁻¹)	0,11	0,12
Condutividade térmica (W m ⁻¹ K ⁻¹)	90,7	21,9
Ponto de fusão (°C)	1455	1670

4.3. Reagentes e soluções

Em todos os experimentos realizados foram utilizados reagentes de grau analítico e água destilada e desionizada (Milli-Q Plus, Millipore, Bedford, MA, EUA). As soluções de referência foram preparadas através da diluição de soluções estoque 1000 mg L⁻¹ Cu (Teclab, Hexis, São Paulo, SP, Brasil)

Como soluções carregadoras foram preparadas soluções de HNO₃ 0,014 mol L⁻¹ a partir da diluição do HNO₃ concentrado 14,0 mol L⁻¹ (Merck, Darmsdadt, Alemanha). Na etapa de decomposição assistida por radiação MW, foram utilizadas soluções de HNO₃ (Merck) e H₂O₂ 30% v v⁻¹ (Synth, Diadema, SP, Brasil).

Soluções $150 \text{ mg L}^{-1} \text{ Sn}$, utilizadas nos testes para estimar a temperatura da fase gasosa no interior dos tubos atomizadores, foram preparadas por diluição da solução estoque $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ Sn}$ (Teclab, Hexis, São Paulo, SP, Brasil). No estudo da presença de concomitantes sobre o sinal analítico de Cu, foram usadas soluções de Ca, K, Mg e Na, preparadas por dissolução de seus respectivos sais (Merck), CaCl_2 , KCl, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ e NaCl em água.

4.4. Amostras e materiais de referência certificados

As amostras analisadas foram gentilmente cedidas pelo Laboratório de Dietética da Faculdade de Nutrição da Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas) sob coordenação da Profa. Dra. Semíramis M. A. Domene. As duas amostras avaliadas foram fígado de aves e suplemento alimentar. Os alimentos foram cozidos e, posteriormente liofilizados. O suplemento alimentar é constituído basicamente por fígado de aves, porém, é refogado com cebola e alho com posterior adição de leite e creme de leite. Para verificar a exatidão do método proposto foram utilizadas seis amostras de CRM's, entre elas, folhas de espinafre (NIST 1570a), folhas de tomate (NIST 1573a), folhas de pêssigo (NIST 1547), folhas de maçã (NIST 1515) e fígado bovino (NIST 1577b) produzidas pelo *National Institute of Standard and Technology* (NIST, Gaithersburg, MD, EUA) e rim de porco (BCR-186), produzido pelo *Community Bureau of Reference*, comissão europeia, Bruxelas, Bélgica.

4.5. Descontaminação dos materiais

Para que não ocorressem erros ocasionados por contaminação nas determinações de Cu, toda a vidraria e recipientes plásticos utilizados no armazenamento das soluções foram lavados com água corrente e detergente neutro, enxaguado com água destilada e desionizada e colocados em banho de HCl 10% v v⁻¹ por pelo menos 24 h. Em seguida o material foi enxaguado com água desionizada e deixado para secagem em capela de fluxo laminar (Veco, Campinas, SP, Brasil).

Capítulo 5

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

5. Procedimento Experimental

5.1. Otimização do sistema TS-FF-AAS

Foi aplicado um planejamento fatorial 2^4 , totalizando 16 experimentos, com três réplicas cada. Algumas variáveis foram investigadas visando aperfeiçoar o sistema sobre o sinal analítico do Cu, entre elas, tamanho dos tubos de Ti inseridos dentro dos tubos de Ni (1), vazão do carregador (2), volume de amostra (3) e altura do tubo atomizador posicionado sobre o queimador (4). As variáveis foram normalizadas em dois níveis, -1 e +1, referindo-se, respectivamente aos menores e maiores valores. Os menores e maiores níveis para cada variável foram, respectivamente: tamanho dos tubos de Ti (T1 e T2, Figura 4.2.3 (a) e (b), respectivamente) inseridos em um tubo de Ni (Figura 4.2.2.(a)), vazão do carregador (0,4 e 0,6 mL min⁻¹), volume de amostra (100 e 300 µL) e altura do tubo atomizador posicionado sobre o queimador (5 e 15 mm). O planejamento fatorial proposto encontra-se descrito na Tabela 5.1.1.

Tabela 5.1.1. Experimentos realizados no planejamento fatorial 2^4 para a otimização das condições do sistema TS-FF-AAS sobre o sinal de Cu

Experimento	Tubo	Vazão do	Volume de	Altura do
	Atomizador	carregador	amostra	tubo
	(1)	(2)	(3)	(4)
1	-1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1	-1
3	-1	1	-1	-1
4	1	1	-1	-1
5	-1	-1	1	-1
6	1	-1	1	-1
7	-1	1	1	-1
8	1	1	1	-1
9	-1	-1	-1	1
10	1	-1	-1	1
11	-1	1	-1	1
12	1	1	-1	1
13	-1	-1	1	1
14	1	-1	1	1
15	-1	1	1	1
16	1	1	1	1

5.2. Figuras de mérito

Depois de otimizado o sistema TS-FF-AAS, foram preparadas três curvas de calibração com concentrações 50, 100, 250 e 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cu e empregados três sistemas distintos: FAAS, TS-FF-AAS utilizando tubo atomizador de Ni e TS-FF-AAS utilizando tubo atomizador Ni/Ti2. Todas as soluções foram preparadas em 0,014 mol L^{-1} HNO_3 .

Foram verificados o limite de detecção (LOD), o coeficiente de correlação linear (r) e a sensibilidade (coeficiente angular) das curvas analíticas

obtidas. Para os testes com TS-FF-AAS foram introduzidos volumes discretos que serão reportados nos próximos itens. Já para a FAAS, as soluções foram introduzidas de forma convencional via nebulizador.

5.3. Estudo do sinal analítico de Cu empregando diferentes tubos atomizadores em TS-FF-AAS

Nove tubos atomizadores de diferentes materiais e configurações foram avaliados com soluções contendo $500 \mu\text{g L}^{-1}$ Cu. Os tubos avaliados foram, Ni6, Ti6, Ni/Ti2, Ti_{chanfrado}, Ti5, Ti4, Ni_{espesso}, Inconel e Ni/Ti3. Volumes de $300 \mu\text{L}$ da solução foram introduzidas no interior dos tubos na vazão de carregador ($0,014 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$) $0,4 \text{ mL min}^{-1}$.

Os dados foram adquiridos com um tempo de integração de 120 s.

5.4. Teste de temperatura

Para verificar possíveis relações entre o sinal analítico do Cu com o tipo de tubo atomizador (Ni ou Ni/Ti) utilizado, foi realizado um teste para estimar a temperatura da fase gasosa no interior dos tubos atomizadores. O teste baseou-se em estudos realizados por Chakrabarti et al.⁷⁸, que investigaram a temperatura estimada da fase gasosa no interior de tubos de grafite utilizados em GFAAS. Soluções 150 mg L^{-1} Sn foram introduzidas via nebulizador ou via capilar cerâmico. As temperaturas foram estimadas na chama oxidante ar/acetileno e nos tubos atomizadores de Ni6, Ti6, Ni/Ti1 e Ni/Ti2. No caso dos tubos atomizadores a temperatura foi estimada nas seguintes vazões de carregador $0,014 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$, 0,0, 0,4 e $0,6 \text{ mL min}^{-1}$. A temperatura da fase gasosa foi estimada de acordo com a equação a seguir:

$$\text{Temperatur a estimada da fase gasosa (}^\circ\text{C)} = \frac{2143}{\log_{4,9x} \left(\frac{A1}{A2} \right)}$$

O cálculo para a determinação da temperatura relaciona as linhas de emissão de Sn nos comprimentos de onda mais sensíveis, nos valores de absorbância a 286,3 nm (A1) e 284,0 nm (A2). Ressalta-se que outras soluções poderiam ser utilizadas na estimativa da temperatura da fase gasosa, como soluções de Ni, nos comprimentos de onda 229,0 e 232,6 nm, e soluções de Pb, nos comprimentos de onda 328,3 e 280,2 nm.

5.5. Estudo do sinal analítico de Cu na presença de concomitantes

Um estudo adicional foi realizado para avaliar os efeitos de diferentes concomitantes (Ca, K, Mg e Na) sobre o sinal analítico de Cu empregando a TS-FF-AAS e tubos atomizadores de Ni6 e Ni/Ti1. Foi aplicado um planejamento fatorial 2^4 com concentração de concomitantes zero (corresponde ao menor nível -1) e 0,01, 0,3, 0,2 e 0,07 g L⁻¹ para Ca, K, Mg e Na, respectivamente (corresponde ao maior nível +1). A descrição do planejamento fatorial encontra-se na Tabela 5.5.1.

A concentração de Cu foi fixada em 500 µg L⁻¹. As proporções concentração de concomitante/concentração de Cu para os maiores níveis para Ca, K, Mg e Na encontram-se na Tabela 5.5.2. Ressalta-se que os valores indicados para os maiores níveis de concomitantes foram escolhidos de acordo com as concentrações máximas de Cu tipicamente presentes nas amostras de matérias biológicas e alimentos.

Tabela 5.5.1. Experimentos realizados no planejamento fatorial 2^4 para avaliar o sinal de Cu na presença de concomitantes

Experimento	Concomitante			
	Na	K	Ca	Mg
1	-1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1	-1
3	-1	1	-1	-1
4	1	1	-1	-1
5	-1	-1	1	-1
6	1	-1	1	-1
7	-1	1	1	-1
8	1	1	1	-1
9	-1	-1	-1	1
10	1	-1	-1	1
11	-1	1	-1	1
12	1	1	-1	1
13	-1	-1	1	1
14	1	-1	1	1
15	-1	1	1	1
16	1	1	1	1

Tabela 5.5.2. Proporção concentração do concomitante/concentração de cobre nas amostras de materiais biológicos e alimentos

Proporção concentração do contaminante / concentração de cobre	
Ca / Cu	20
K / Cu	600
Mg / Cu	400
Na / Cu	140

5.6. Micro-análises e difratometria de raios-X

As características morfológicas de tubos de Ti novos e usados foram realizadas com auxílio de um microscópio eletrônico de varredura. O tubo de Ti usado foi retirado do interior do tubo Ni/Ti₂ e, em seguida, cortado em pequenos fragmentos. Estes fragmentos foram recobertos por uma pequena película de prata. As imagens foram obtidas aplicando aceleração de elétrons de 20 kV. A técnica de difratometria de raios-X também foi empregada para o estudo da composição superficial dos tubos de Ti novos e usados. Os tubos foram cortados em pequenos fragmentos e fixados em um porta amostra. O modo de varredura completa foi empregado com aceleração de elétrons de 40 kV. A amostra foi fixada em um ângulo theta (Θ), enquanto o detector foi posicionado em ângulo 2-theta (2Θ) em relação ao feixe de raios-X.

5.7. Determinação da concentração de Cu em digeridos de alimentos e materiais biológicos

O teor de Cu foi determinado em duas amostras de alimentos e em seis amostras de CRM's. As amostras foram pesadas com massas variando de 0,100 a 0,150 g. Em seguida, foram transferidas para frascos próprios para forno de microondas e arranjados em um forno microondas com cavidade para digestão juntamente com 0,4 mL de HNO₃ 14 mol L⁻¹, 2 mL de H₂O₂ 30% v v⁻¹ e 5,6 mL de água destilada e desionizada para que os frascos atingissem o volume de 8 mL (volume mínimo recomendado pelo fabricante). O programa de aquecimento empregado consistiu em seis etapas e foi uma adaptação do programa descrito por ARAÚJO et al.⁷¹ conforme descrito na Tabela 5.7.1. Foram realizadas três digestões independentes para cada amostra.

Tabela 5.7.1. Programa de aquecimento empregado para a decomposição por radiação assistida por microondas das amostras de alimentos e CRM's

Etapa	Potência (W)	Tempo (min)
1	250	2
2	0	2
3	550	4
4	650	4
5	750	5
6	0	5

As amostras digeridas foram transferidas para frascos de polipropileno de 50 mL e diluídas para um volume de 20 mL com água destilada e desionizada e, posteriormente analisadas por TS-FF-AAS.

Capítulo 6

RESULTADOS E DISCUSSÃO

6. Resultados e Discussão

6.1. Otimização do sistema TS-FF-AAS

O planejamento fatorial 2^4 descrito na Tabela 5.1.1. foi realizado com um total de 16 experimentos, todos eles com três réplicas. Como respostas para o sinal de Cu foram avaliados os valores de absorvância e absorvância integrada. A Figura 6.1.1. mostra os efeitos do tamanho dos tubos de Ti (Ti1 e Ti2) inseridos dentro de tubos de Ni6, da vazão do carregador, do volume de amostra e da altura do tubo atomizador posicionado sobre a chama para uma solução de Cu $500 \mu\text{g L}^{-1}$.

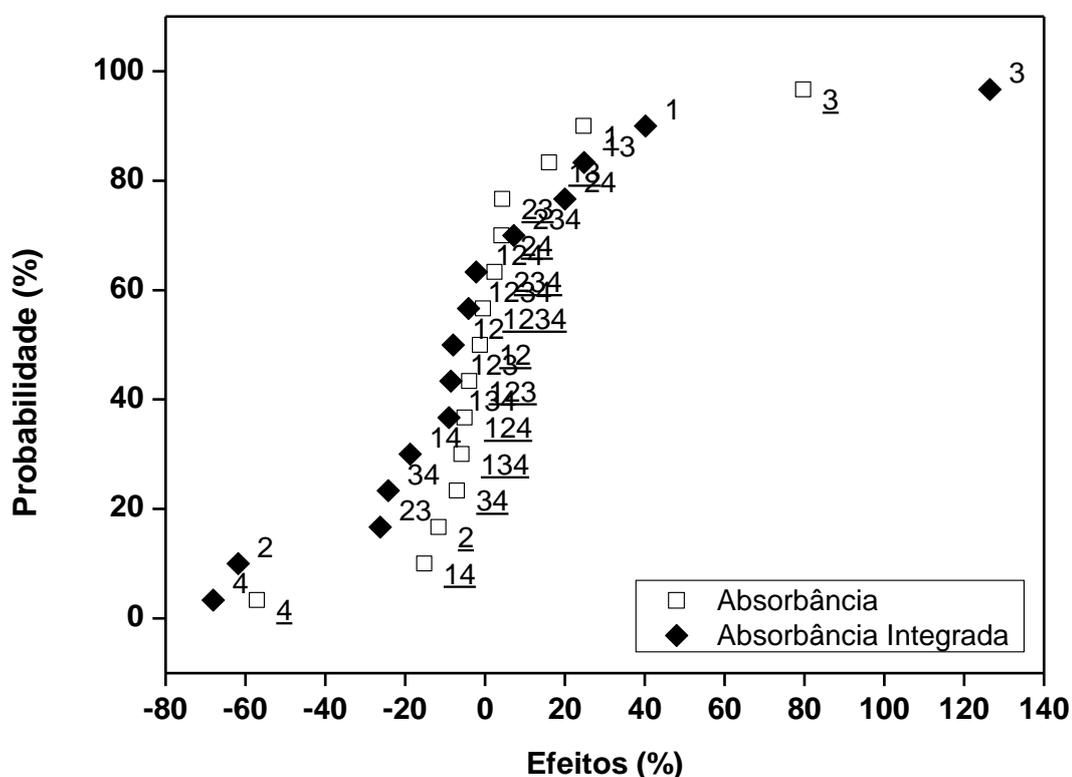


Figura 6.1.1. Gráfico de probabilidade para os efeitos: tubo atomizador, vazão do carregador, volume de amostragem e altura do tubo sobre o atomizador, sobre o sinal de Cu utilizando valores de absorvância e absorvância integrada como respostas analíticas.

Para facilitar a verificação e a comparação entre os efeitos, os sinais foram normalizados com o maior sinal analítico assumindo valor igual a 100. O perfil do gráfico de probabilidade em função dos efeitos para as variáveis testadas teve

comportamento semelhante para as respostas absorvância e absorvância integrada. O efeito positivo mais significativo sobre o sinal analítico da solução de Cu, cerca de 80 e 130% para os valores de absorvância e absorvância integrada, respectivamente, foi o volume de amostra introduzido no interior do tubo atomizador (3). Quando maiores volumes foram introduzidos (300 μL), maior foi a resposta para o sinal analítico de Cu. Isso era de se esperar, pois quanto maiores quantidades de amostras chegam ao atomizador, maiores quantidades de Cu (espécies no estado fundamental) estarão disponíveis a sofrerem os processos de atomização, daí o maior sinal em comparação aos menores volumes (100 μL). Entretanto, quando são introduzidos elevados volumes de amostras, a frequência analítica diminui, podendo ser necessário a escolha de volumes menores que viabilizem as análises. A vazão do carregador (2) e a altura do tubo posicionado sobre o atomizador (4) apresentaram efeitos negativos. Quando foi utilizada maior vazão do carregador (0,6 mL min^{-1}) e maior altura de posicionamento do tubo atomizador, menor foi a resposta obtida para a solução de Cu, ou seja, efeitos negativos na faixa de 60%. O uso de vazões mais elevadas e do posicionamento do tubo em regiões mais afastadas do queimador (15 mm) podem ocasionar o resfriamento do tubo metálico e prejudicar os processos de atomização do Cu. Além disso, maiores vazões diminuem o tempo de residência dos átomos no interior dos tubos, podendo prejudicar a resposta para o sinal do analito.

Um resultado muito interessante observado neste trabalho está relacionado ao comprimento dos tubos de Ti inseridos nos tubos de Ni6 (1). Esta variável apresentou um efeito positivo variando de 30 a 40% sobre o sinal de Cu. O sinal analítico de Cu aumentou quando o tubo de Ti2 foi utilizado (ver detalhes na Figura 4.2.3 (b)). Dessa forma, a hipótese de que a sensibilidade do Cu é relacionada devido a interação TiO_2/Cu pode ser confirmada. Quanto maior o tamanho do tubo de Ti, maior a quantidade de Ti disponível para formar TiO_2 e maior o efeito positivo na atomização do Cu. Outros efeitos, abrangendo a faixa de -20 a 20% são decorrentes de efeitos secundários, terciários e quaternários entre os parâmetros avaliados.

A Figura 6.1.2. mostra um fiograma para os sinais de absorvância obtidos em todos os experimentos testados. É possível observar pelo fiograma que os sinais de Cu, para as respostas absorvância e absorvância integrada, foram maiores nos experimentos 6 e 8, cuja única diferença foi em relação a vazão do

carregador, 0,4 e 0,6 mL min⁻¹ respectivamente, e os menores sinais foram nos experimentos 11 e 12, que diferiram apenas no tamanho do tubo de Ti inserido no interior do tubo de Ni, Ti1 e Ti2 respectivamente.

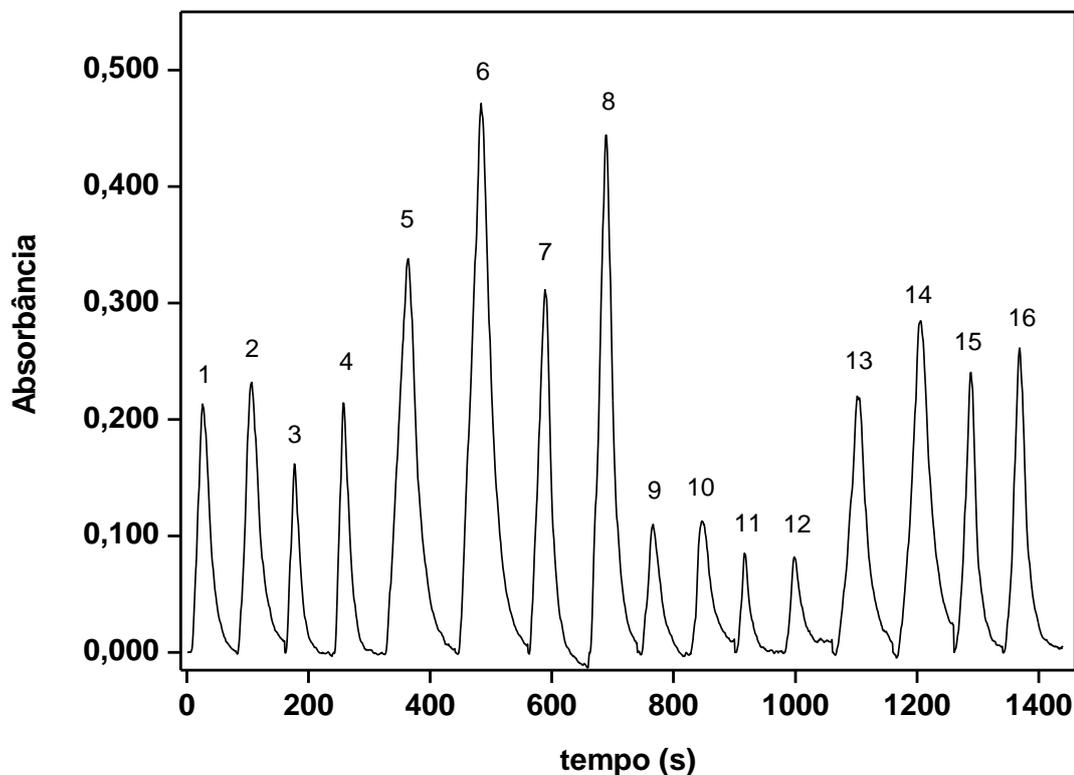


Figura 6.1.2. Diagrama dos experimentos obtidos pelo planejamento fatorial 2⁴

Os pares de experimentos, 1 e 2, 3 e 4, 5 e 6, 7 e 8, 9 e 10, 11 e 12, 13 e 14 e 15 e 16 apresentam com única diferença, entre os pares, o tamanho do tubo de Ti inserido no interior do tubo de Ni. É possível observar através do planejamento realizado da Tabela 5.1.1. e do diagrama da Figura 6.1.2. que quando o tubo de Ti2 foi utilizado inserido no tubo de Ni (Ni/Ti2) (experimentos pares), maior foi a resposta para os valores de absorbância e absorbância integrada para os sinais de 500 µg L⁻¹ Cu. As condições otimizadas para a determinação de Cu por TS-FF-AAS são fornecidas na Tabela 6.1.1.

Tabela 6.1.1. Condições otimizadas para o Cu utilizando a TS-FF-AAS

Condições otimizadas	
Tubo atomizador	Ni/Ti2
Vazão do carregador (mL min ⁻¹)	0,4
Volume de amostra (µL)	300
Altura do tubo atomizador sobre o queimador (mm)	5

6.2. Figuras de mérito

As curvas de calibração foram construídas com concentrações de Cu variando de 50 a 500 µg L⁻¹. A Figura 6.2.1. mostra as curvas de calibração empregando a FAAS e o sistema TS-FF-AAS, utilizado de acordo com as condições otimizadas na Tabela 6.1.1.

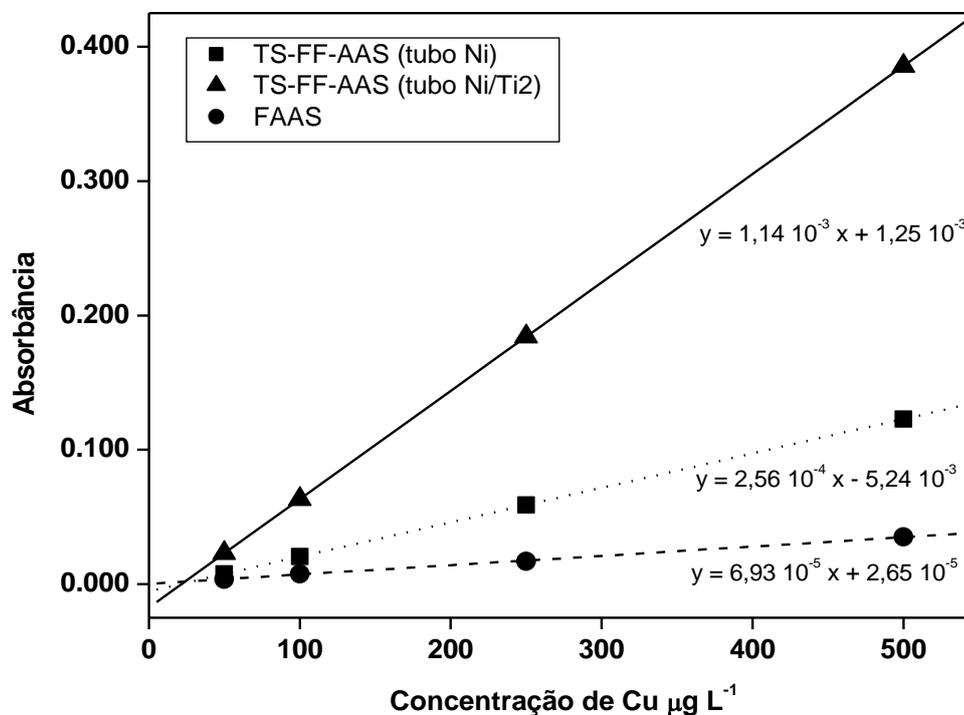


Figura 6.2.1. Curvas de calibração para soluções de Cu 50, 100, 250 e 500 µg L⁻¹ obtidas em FAAS e TS-FF-AAS com tubos atomizadores de Ni6 e Ni/Ti2.

Os limites de detecção (LOD) foram calculados como três vezes o desvio padrão do sinal da solução do branco, dividido pelo coeficiente angular (a) da curva de calibração. Os LOD's, o coeficiente de correlação linear (r) e a sensibilidade (coeficiente angular) encontrada na FAAS e no sistema TS-FF-AAS utilizando tubos de Ni6 e tubos de Ni/Ti2 são fornecidos na Tabela 6.2.1. A sensibilidade para o sistema TS-FF-AAS foi aproximadamente 4 vezes maior quando tubos atomizadores de Ni/Ti2 foram utilizados em comparação aos tubos usuais de Ni e aproximadamente 16 vezes maior em comparação a técnica FAAS.

Tabela 6.2.1. Respostas analíticas obtidas através da curva de calibração utilizando-se o sistema TS-FF-AAS com tubos atomizadores de Ni e Ni/Ti2 e a técnica FAAS.

Tubo Atomizador / Técnica	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	r	a (absorbância/$\mu\text{g L}^{-1}$)
Ni6 (TS-FF-AAS)	18	0,999	$2,65 \times 10^{-4}$
Ni/Ti2 (TS-FF-AAS)	2	0,999	$1,14 \times 10^{-3}$
FAAS	113	0,999	$6,93 \times 10^{-5}$

Os LOD's obtidos ao empregar o sistema TS-FF-AAS com tubos atomizadores de Ni/Ti2 foi cerca de 9 e 55 vezes menores quando tubos atomizadores de Ni e a técnica FAAS foram utilizadas, respectivamente.

6.3. Estudo do sinal analítico de Cu empregando diferentes tubos atomizadores em TS-FF-AAS

As condições ótimas determinadas em estudos prévios (Tabela 6.1.1) foram usadas para verificar o efeito de diferentes tubos atomizadores com diferentes configurações sobre o sinal de Cu, cuja concentração foi fixada em $500 \mu\text{g L}^{-1}$. A partir da Figura 6.3.1. é possível observar que os tubos de Ti apresentaram os maiores sinais analíticos para o Cu. Os tubos atomizadores de Ti com 4, 5 e 6 orifícios (Ti4, Ti5 e Ti6, respectivamente) em contato com a chama do espectrômetro apresentaram sinais analíticos aproximadamente 2 vezes maiores em comparação ao tubo atomizador de Ni6. Para o tubo de Ti chanfrado, com 75 mm de ranhura, o

sinal analítico de Cu foi semelhante ao tubo de Ni6. Isso se deve ao fato do tubo de Ti chanfrado permitir grande penetração da chama ar/acetileno no seu interior, provocando a diluição e minimizando o tempo de residência da nuvem atômica, mesmo com maiores temperaturas atingidas. O tubo atomizador de Ni/Ti2 possibilitou o maior sinal analítico, para a resposta absorvância, para a solução de Cu $500 \mu\text{g L}^{-1}$, cerca de 4 vezes maior em relação ao tubo de Ni6. Os resultados apresentados nas Figuras 6.3.1 e 6.1.1. sugerem que a quantidade de Ti dentro dos tubos de Ni pode melhorar o sinal analítico para o Cu. Esta melhora pode estar associada à temperatura que os tubos atomizadores de Ti atingem (teste que será discutido posteriormente) ou por alguma modificação ou aperfeiçoamento no mecanismo de atomização do Cu, descrito anteriormente por STYRIS et al.⁷⁹.

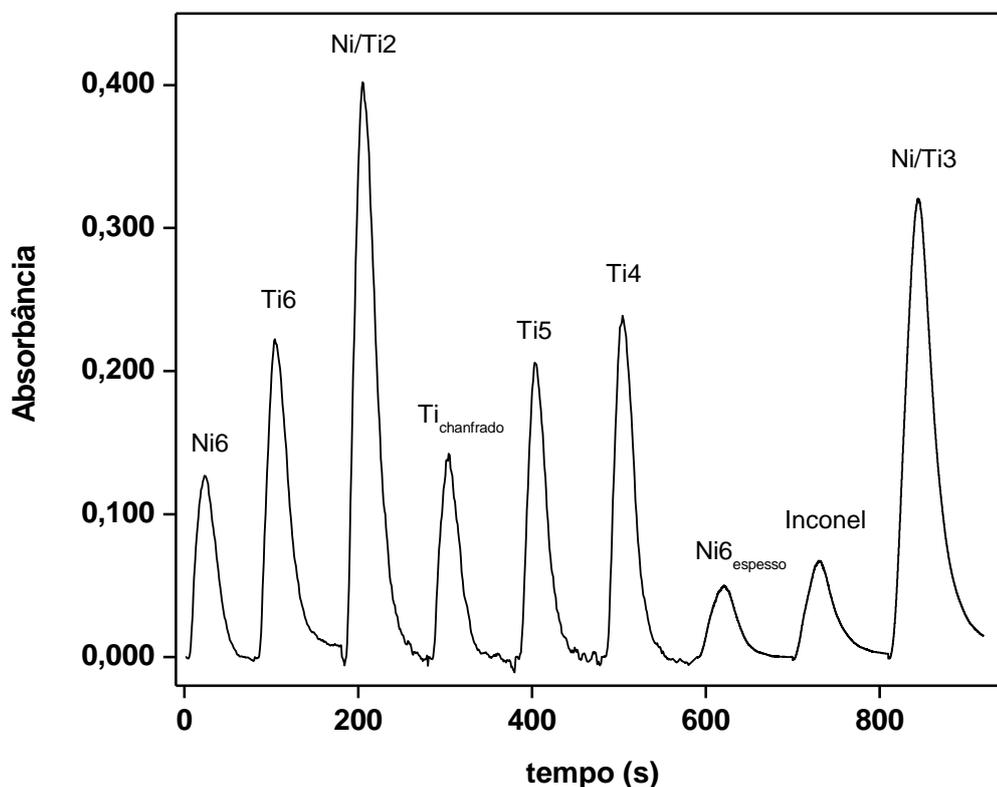


Figura 6.3.1. Diagrama dos sinais analíticos para $500 \mu\text{g L}^{-1}$ Cu utilizando diferentes tubos atomizadores de diferentes configurações.

Outra explicação para a elevada sensibilidade na determinação de Cu com o uso de tubos de Ni/Ti2 está relacionada ao menor volume interno (2,8 mL) quando comparados aos tubos Ni/Ti1 e Ni/Ti3 (5,6 e 5,1 mL respectivamente). Para verificar esta possibilidade foi efetuado um experimento utilizando um tubo de Ni,

denominado Ni6_{espesso} (ver detalhes na Figura 4.2.2. (b)), com volume interno de 2,1 mL e nenhuma melhora foi observada no sinal analítico do Cu. Dessa forma a melhora do sinal do Cu quando são utilizados tubos de Ti não esta relacionada ao volume interno dos tubos, mas possivelmente à temperatura ou a diferentes rotas de atomização.

Um tubo de Inconel também foi utilizado na determinação do sinal analítico de soluções 500 µg L⁻¹ Cu e nenhuma melhora foi alcançada em relação aos tubos atomizadores de Ni e Ti. Todos os tubos de Ti avaliados foram mais sensíveis que os demais tubos de diferentes arranjos (ver Figura 6.3.1.).

Os tubos avaliados foram comparados individualmente com o tubo de Ni6, utilizando como respostas os valores para absorbância e absorbância integrada para a solução 500 µg L⁻¹ Cu. Essa comparação foi realizada devido ao tubo de Ni com 6 orifícios ser o mais utilizado em análises empregando o sistema TS-FF-AAS^{9,10, 37-52, 54-66}.

Tabela 6.3.1. Comparação entre os valores de absorbância e absorbância integrada entre diversos tubos atomizadores com o tubo de Ni6 para soluções de Cu

Tubo atomizador	Absorbância	Ganho (%)	Absorbância Integrada	Ganho (%)
Ni6	0,127	-	3,39	-
Ti6	0,222	75	6,77	100
Ni/Ti2	0,402	217	11,8	248
Ti_{chanfrado}	0,142	12	3,53	4
Ti5	0,206	62	5,14	52
Ti4	0,239	88	6,20	83
Ni6_{espesso}	0,0503	- 60	1,75	- 48
Inconel	0,0677	- 41	2,60	- 23
Ni/Ti3	0,313	146	12,6	270

6.4. Teste de temperatura

Utilizando a equação descrita por CHACKABARTI et al.⁷⁸ foram realizados experimentos para estimar a temperatura na fase gasosa no interior dos tubos atomizadores de Ni6, Ti6, Ni/Ti1, Ni/Ti2 e na chama ar/acetileno do espectrômetro. A temperatura da chama encontrada foi em torno de 2100°C. A partir da Figura 6.4.1. é possível verificar as temperaturas estimadas na fase gasosa. Esta temperatura é estimada devido ao fato da solução de Sn ser introduzida via nebulizador, pois via capilar cerâmico não foi possível observar os sinais de absorvância para as soluções de Sn, podendo ter causado resfriamento dos tubos atomizadores. Os tubos de Ti6, Ni/Ti1 e Ni/Ti2 não apresentaram maiores temperaturas em comparação ao tubo de Ni6. É importante enfatizar que o procedimento para a determinação de Cu foi otimizado a uma vazão de carregador de 0,4 mL min⁻¹. A temperatura do tubo de Ni6 foi da magnitude de 1750°C, aproximadamente 450, 200 e 500°C a mais do que os tubos de Ti6, Ni/Ti2 e Ni/Ti1, respectivamente, na vazão de carregador otimizada.

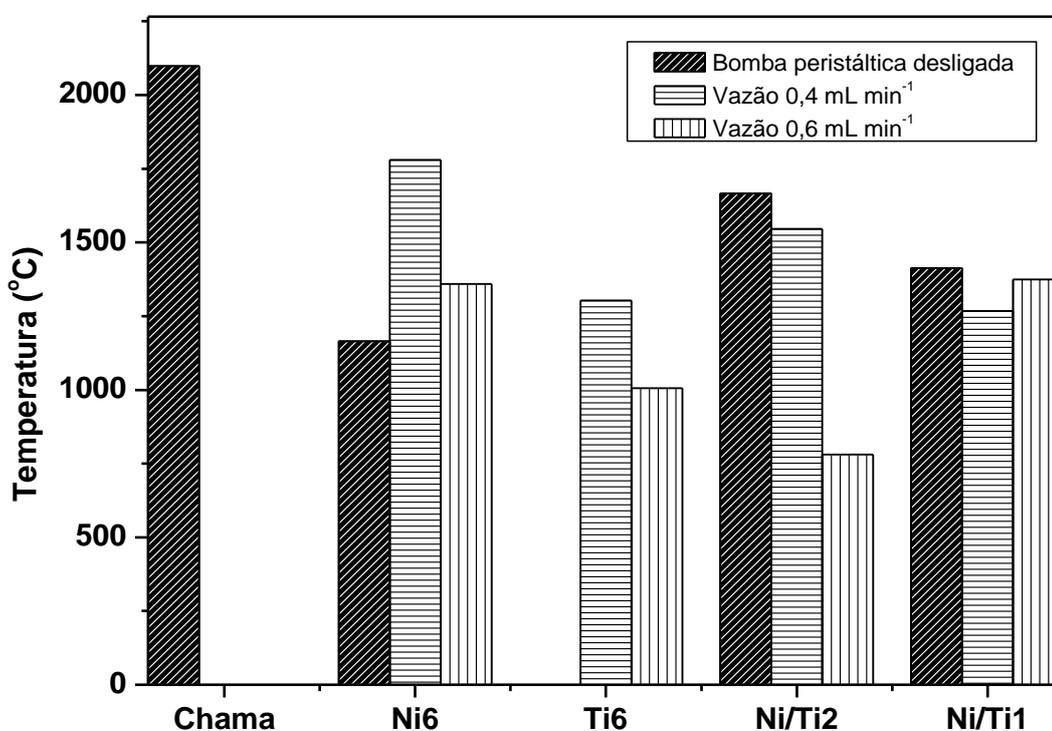


Figura 6.4.1. Temperatura estimada da fase gasosa de diferentes tubos atomizadores e na chama ar/acetileno

De forma geral, as temperaturas estimadas foram maiores quando a bomba peristáltica estava desligada, com exceção do tubo de Ni6, e em menores vazões do carregador. A temperatura da fase gasosa do tubo de Ti6 não foi estimada porque o valor da absorbância A2 forneceu valor negativo, impossibilitando os cálculos como descritos por CHACKABARTI et al.⁷⁸. A Tabela 6.4.1. mostra os valores das temperaturas estimadas da fase gasosa, utilizando solução 150 mg L⁻¹ Sn, nos diferentes tubos atomizadores propostos e no sistema FAAS.

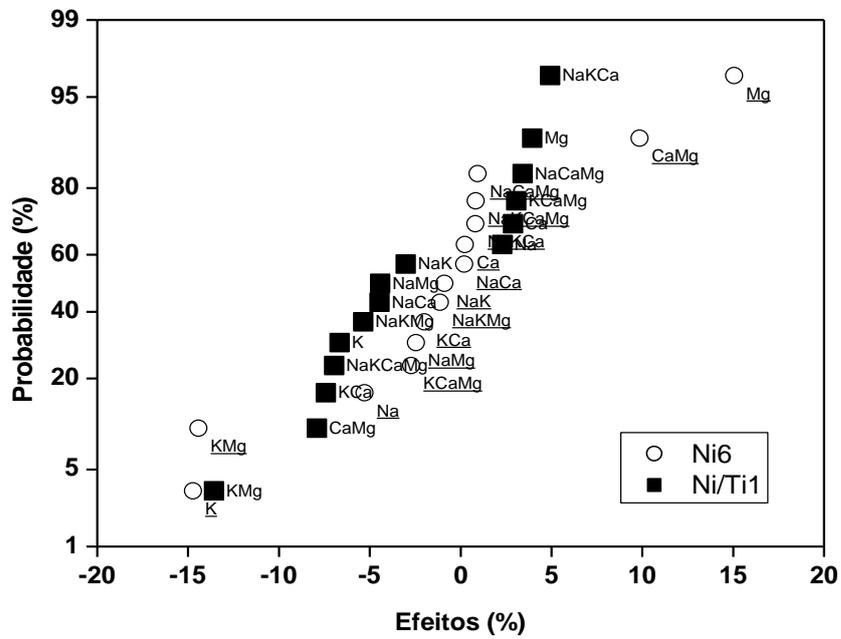
Tabela 6.4.1. Valores das temperaturas estimadas da fase gasosa em tubos atomizadores diferentes e na chama do espectrômetro

Tubo Atomizador	Temperatura estimada da fase gasosa (°C)		
	Bomba peristáltica desligada	Vazão 0,4 mL min ⁻¹	Vazão 0,6 mL min ⁻¹
Chama	2098	-	-
Ni6	1165	1780	1359
Ti6	-	1303	1006
Ni/Ti2	1666	1546	781
Ni/Ti1	1413	1268	1374

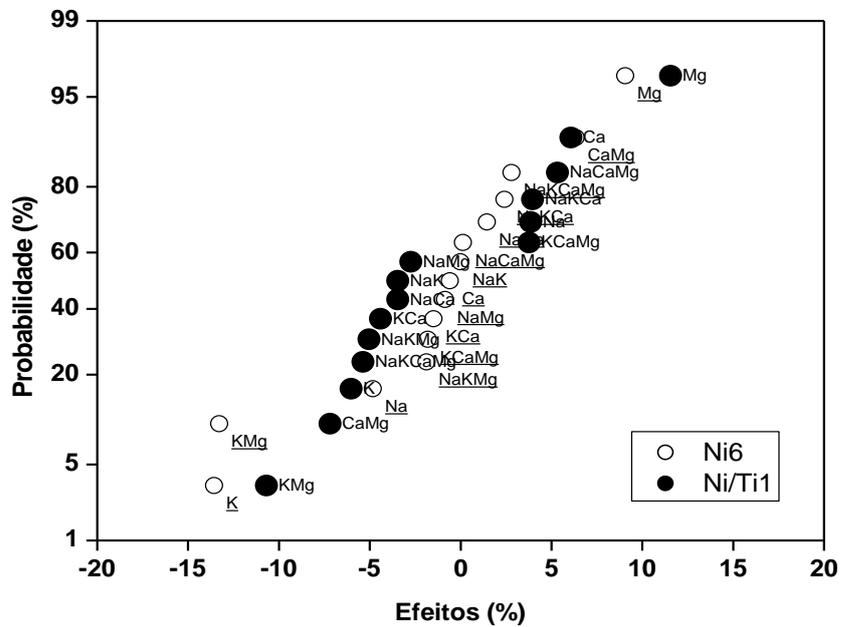
6.5. Estudo do sinal analítico de Cu na presença de concomitantes

O comportamento dos tubos atomizadores de Ni6 e Ni/Ti1 foram avaliados na determinação de Cu 500 µg L⁻¹ na presença dos concomitantes Ca, K, Mg e Na. Para verificar o comportamento dos tubos, foi aplicado um planejamento fatorial 2⁴ (veja detalhes na Tabela 5.5.1). As Figuras 6.5.1 (a) e (b) mostram o gráfico de probabilidade em função dos efeitos para as respostas absorbância e absorbância integrada, respectivamente. Ambos os tubos apresentaram comportamentos similares em relação aos concomitantes Mg e K. As respostas absorbância e absorbância integrada sobre o sinal de Cu foram monitoradas na ausência e presença dos concomitantes. Os sinais para as respostas analíticas foram normalizados com os maiores valores assumindo o valor de 100. Os efeitos

mais significativos foram observados na presença de Mg (efeito positivo), K (efeito negativo) e na interação entre os concomitantes K e Mg (efeito negativo), indicado na Figura 6.5.1. (a) e (b) como KMg. É possível observar para ambos os tubos que estes efeitos variaram entre -15 e 15%.



(a)

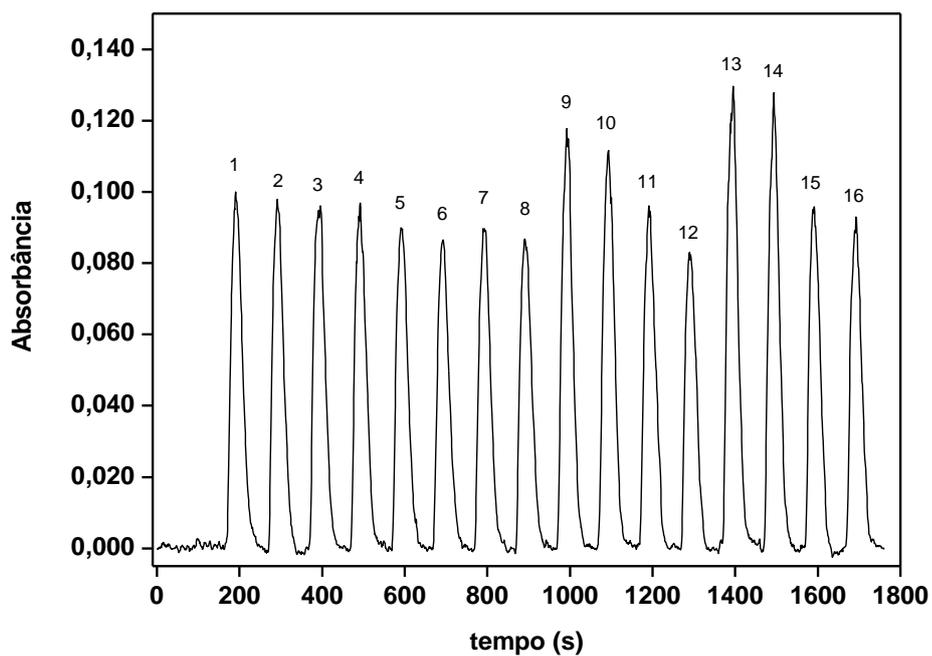


(b)

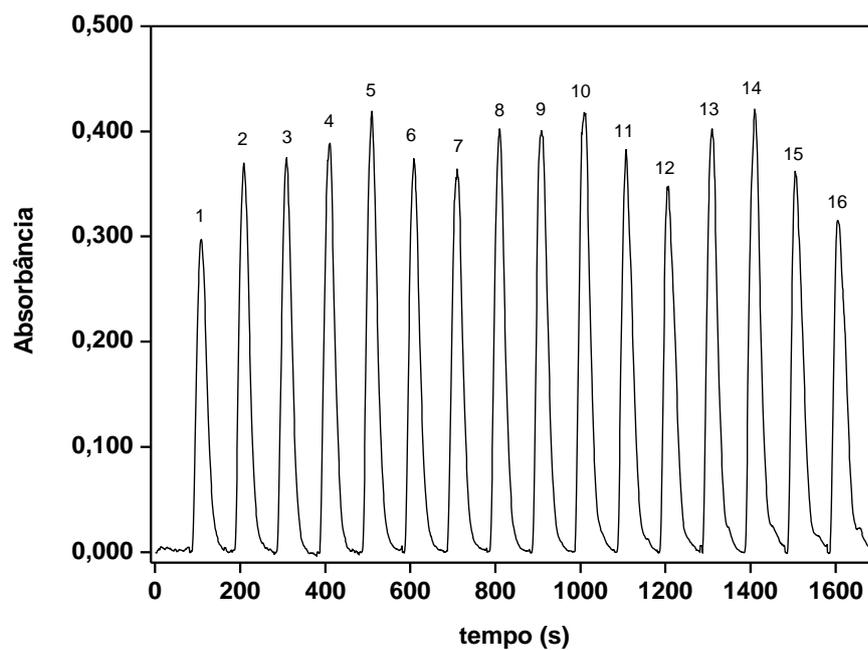
Figura 6.5.1. Gráfico de probabilidade para os efeitos dos concomitantes, sobre o sinal de Cu utilizando valores de absorvância (a) e absorvância integrada (b) como respostas analíticas empregando tubos atomizadores de Ni6 e Ni/Ti1

Os sinais analíticos para a solução de Cu $500 \mu\text{g L}^{-1}$ utilizando como resposta analítica os valores de absorvância na presença de concomitantes podem ser observados na Figura 6.5.2. utilizando o sistema TS-FF-AAS, (a) com tubos atomizadores de Ni e (b) com tubos atomizadores Ni/Ti1. É possível observar um aumento significativo do sinal analítico de Cu em todos os experimentos quando é utilizado tubo atomizador de Ni/Ti1 (Figura 6.5.2. (b)), em comparação ao tubo atomizador de Ni6 (Figura 6.5.2. (a)). Os experimentos 1 e 16 foram realizados na ausência e presença de todos os concomitantes, respectivamente, em ambos os tubos e apresentam sinais de absorvância para Cu semelhantes, indicando que em amostras reais, onde o meio é mais complexo e existem vários concomitantes, os sinais tendem a ser semelhantes pela possibilidade dos concomitantes afetar o sinal analítico do analito positivamente ou negativamente.

Para o tubo de Ni/Ti1 todos os experimentos interferiram positivamente sobre sinal analítico de Cu, ou seja, quando há concomitantes juntamente com o analito de interesse, ocorreu aumento do sinal do analítico do analito em comparação ao experimento 1 que representa a ausência de concomitantes. Já para o tubo de Ni6, somente os experimentos 9, 10, 13 e 14 interferiram positivamente sobre sinal analítico do Cu. As Tabelas 6.5.1. e 6.5.2. relacionam a percentagem de interferência sobre o sinal analítico de Cu na presença de concomitantes em relação ao sinal analítico obtido para solução $500 \mu\text{g L}^{-1}$ Cu na ausência de concomitantes (experimento 1) empregando o sistema TS-FF-AAS com tubos atomizadores de Ni6 e Ni/Ti1, respectivamente.



(a)



(b)

Figura 6.5.2. Diagrama dos sinais analíticos para $500 \mu\text{g L}^{-1}$ Cu na presença de concomitantes empregando (a) tubo atomizador de Ni6 e (b) tubo atomizador de Ni/Ti1

Tabela 6.5.1. Percentagem de interferência para as respostas absorvância e absorvância integrada entre os sinais de Cu na ausência e presença de concomitante utilizando tubo atomizador de Ni6

Comparação (experimento)	Interferência (%)		Comparação (experimento)	Interferência (%)	
	Absorvância	Absorvância integrada		Absorvância	Absorvância integrada
1 c/ 2	-2	-8	1 c/ 9	18	11
1 c/ 3	-4	-3	1 c/ 10	12	10
1 c/ 4	-3	-6	1 c/ 11	-4	-6
1 c/ 5	-10	-9	1 c/ 12	-17	-20
1 c/ 6	-13	-13	1 c/ 13	30	23
1 c/ 7	-10	-10	1 c/ 14	28	16
1 c/ 8	-13	-12	1 c/ 15	-4	-10
			1 c/ 16	-7	-11

Tabela 6.5.2. Percentagem de interferência para as respostas absorvância e absorvância integrada entre os sinais de Cu na ausência e presença de concomitante utilizando tubo atomizador de Ni/Ti1

Comparação (experimento)	Interferência (%)		Comparação (experimento)	Interferência (%)	
	Absorvância	Absorvância integrada		Absorvância	Absorvância integrada
1 c/ 2	24	23	1 c/ 9	35	42
1 c/ 3	26	21	1 c/ 10	41	48
1 c/ 4	31	28	1 c/ 11	29	33
1 c/ 5	41	40	1 c/ 12	17	25
1 c/ 6	26	26	1 c/ 13	35	38
1 c/ 7	23	25	1 c/ 14	42	51
1 c/ 8	35	34	1 c/ 15	22	30
			1 c/ 16	6	24

6.6. Micro-análises e difratometria de raios-X

A combinação de todos os resultados pode ser utilizada para explicar a importância da formação de TiO_2 no processo de atomização do Cu. A partir das micro-análises e das análises por difratometria de raios-X foi possível comprovar a formação de TiO_2 a partir da oxidação de Ti pela chama oxidante ar/acetileno.

As micro-análises dos tubos de Ti₂ usados apresentaram a composição superficial de aproximadamente 90% de oxigênio e 10% de Ti. A Figura 6.6.1. mostra as imagens dos tubos de Ti novo e usado com aumento de 1000x, sendo a Figura 6.6.1. (a) e (b) imagens da superfície externa dos tubos atomizadores de Ti usado e novo, respectivamente e (c) imagem da fratura do tubo de Ti usado.

No momento em que o tubo de Ti₂ foi retirado do interior do tubo de Ni₆, foi observado um ganho de massa do tubo de Ti de aproximadamente 45% em relação a sua massa inicial, devido à formação de TiO_2 . Além disso, o tubo de Ti ficou com coloração branca, quebradiço e sem resistência física. PETRUCELLI et al.¹⁰ relataram um ganho de massa de Ti (na forma de TiO_2) entre 10 e 20% que ocorria durante a queima do tubo de Ti. Nesta dissertação, devido ao recobrimento dos tubos de Ti por tubos de Ni, o tubo de Ni evitou o contato direto do Ti com a chama do espectrômetro, bem como permitiu o aprisionamento de maiores quantidades de TiO_2 .

A difratometria de raios-X foi realizada para confirmar a formação de TiO_2 nos tubos de Ti usados, na tentativa de propor um mecanismo para a atomização do Cu. De acordo com STYRIS & REDFIELD⁷⁹ a solução de Cu após aquecimento é convertida em CuO ficando adsorvida na superfície do tubo, sendo que na temperatura de aproximadamente 450°C ocorre a dissociação do Cu na sua forma gasosa.

A Figura 6.6.2. (a) e (b) mostra os difratogramas de raios-X dos tubos de Ti novos e usados, respectivamente.

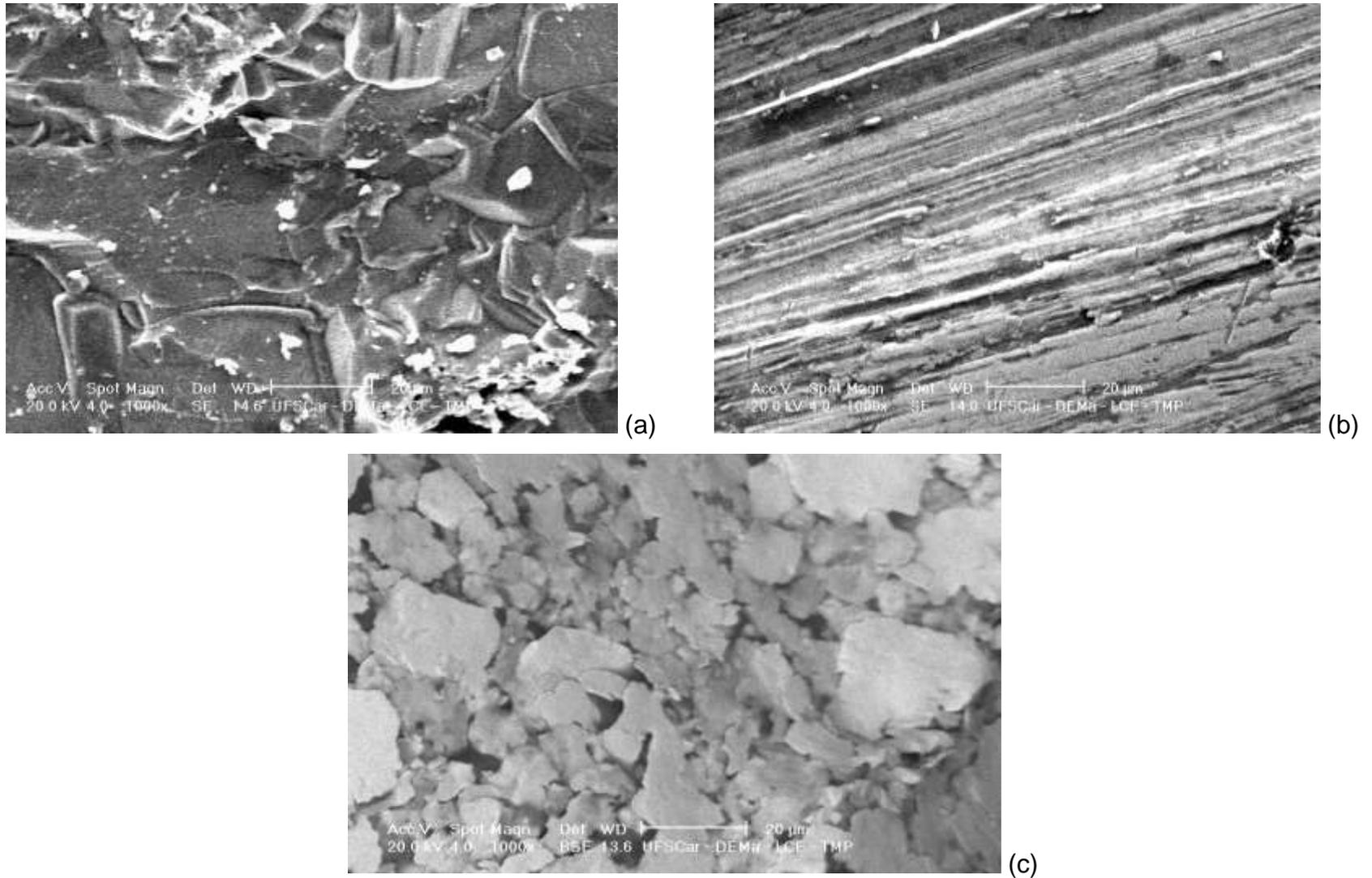
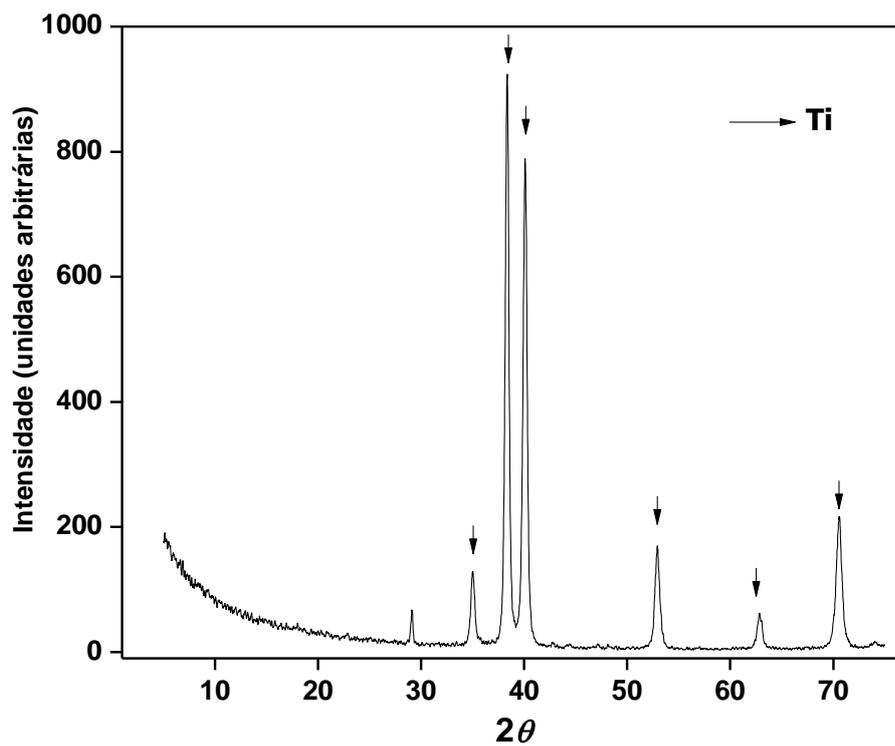
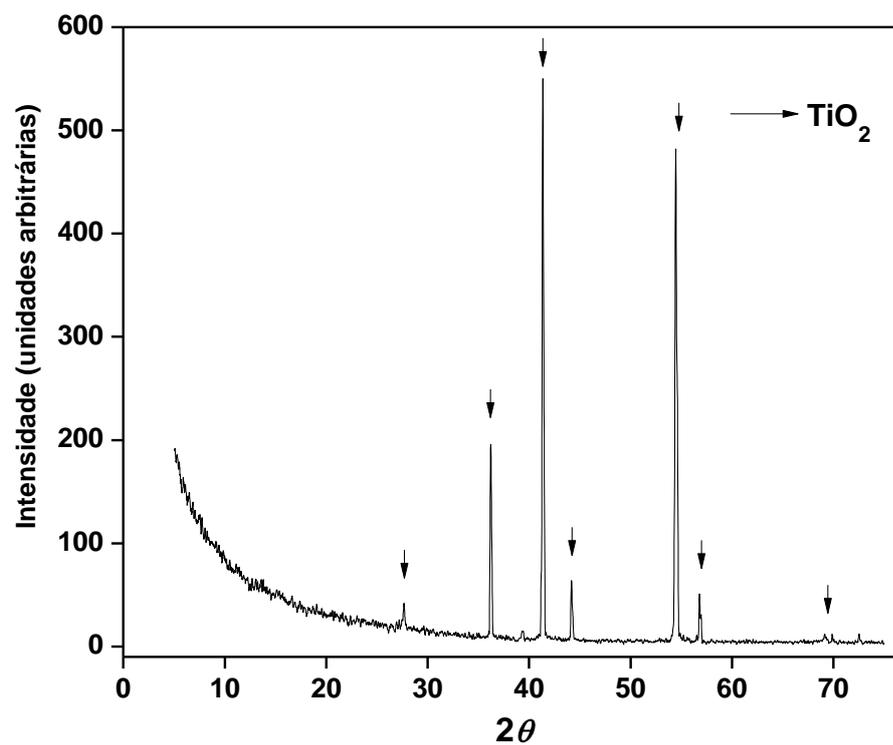


Figura 6.6.1. Micrografias dos tubos atomizadores de Ti com aumento de 1000x. (a) Imagens da superfície externa dos tubos de Ti usado e (b) novo e (c) imagem da fratura do tubo de Ti usado



(a)

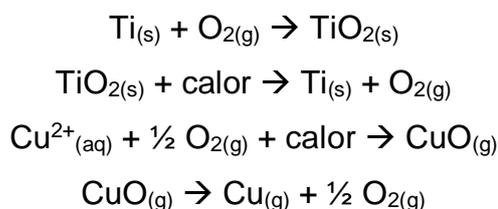


(b)

Figura 6.2.2. Difratoograma de raios-X dos tubos de Ti (a) novo e (b) usado

Como esperado, os difratogramas realizados evidenciaram a presença de Ti metálico na Figura 6.2.2. (a) e na Figura 6.2.2. (b) a total oxidação do Ti metálico em TiO_2 , também observado nas micro-análises, especialmente na forma de TiO_2 rutilo. Esta informação foi fornecida pela biblioteca do equipamento.

Uma possibilidade para a atomização do Cu seria:



Um fato interessante de mencionar é que à medida que o tubo de Ti ficava mais exposto a chama do AAS, aumentava a sensibilidade para os sinais de Cu. Tal fato pôde ser observado até que o interior do tubo metálico ficasse recoberto por uma camada esbranquiçada (formação de TiO_2).

6.7. Determinação da concentração de Cu em digeridos de alimentos e materiais biológicos

A exatidão do método proposto foi verificada pela determinação de Cu em seis amostras de CRM's. Foi realizado um teste-t não pareado que mostrou boa correlação entre os valores certificados e os valores obtidos para todos os CRM's dentro de um nível de confiança de 95%. Os valores de t encontrados foram 1,82, 2,73, 0,63, 2,92, 0,72 e 1,02 para a folha de espinafre, folha de maçã, folha de tomate, folha de pêssigo, rim de porco e fígado bovino, respectivamente, ficando abaixo do valor de t tabelado para 2 graus de liberdade e com 95% de confiança (4,30). A Tabela 6.7.1. mostra os teores de Cu, em $\mu\text{g g}^{-1}$, determinados pelo método proposto e os valores certificados, bem como a faixa de recuperação, em percentagem, das amostras certificadas. As recuperações obtidas variaram de 91 a 107%. Um parâmetro importante foi o êxito na utilização de HNO_3 diluído para a digestão das amostras. A concentração final do ácido após a diluição foi aproximadamente $0,3 \text{ mol L}^{-1}$. Esse valor é fundamental para as análises realizadas

por TS-FF-AAS. Concentrações ácidas elevadas podem lixiviar parte do Cu presente nos tubos atomizadores de Ti e Ni ocasionando erros na determinação da concentração final do analito nas amostras de interesse. O tempo de aquisição do sinal para as determinações foi de 120s e, quando concentrações ácidas maiores que $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ foram empregadas, começava a surgir sinal de Cu proveniente dos tubos atomizadores por volta de 80s.

Os teores de Cu encontrados ($n = 3$) para as amostras de fígado de aves e no suplemento alimentar a base de fígado de aves foram $13,3 \pm 0,8$ e $9,7 \pm 0,5 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente.

Tabela 6.7.1. Valores de concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$) para Cu nas amostras de CRM's

Amostra	Método proposto ($\mu\text{g g}^{-1}$)*	Certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Recuperação (%)
Folha de espinafre	$13 \pm 1,4$	$12,2 \pm 0,6$	107
Folha de maçã	$5,12 \pm 0,66$	$5,64 \pm 0,24$	91
Folha de tomate	$4,6 \pm 0,4$	$4,7 \pm 0,14$	98
Folha de pêsego	$3,6 \pm 0,2$	$3,7 \pm 0,4$	97
Rim de porco	$31,4 \pm 2,2$	$31,9 \pm 0,4$	99
Fígado bovino	115 ± 4	116 ± 8	99

* $n = 3$

Um aumento no tempo de vida útil do tubo atomizador de Ti2 inserido no tubo de Ni6, Ni/Ti2 foi observado. Segundo estudos realizados por PETRUCELLI et al.¹⁰ o tempo de vida útil estimado foi de aproximadamente 5 horas. Entretanto, quando o tubo de Ti foi inserido dentro do tubo de Ni (Ni/Ti1, Ni/Ti2 e Ni/Ti3) foi possível utilizar o tubo por mais de 12 horas (cerca de 500 determinações) sem que houvesse perdas no desempenho dos tubos em relação ao sinal analítico de Cu. A perda de desempenho foi relacionada com a diminuição de sinal de Cu quando o tubo começou a ficar quebradiço, o que foi observado depois de 12 horas de uso. O acoplamento Ni/Ti ofereceu proteção física ao tubo de Ti evitando a perda de massa (TiO_2) e aumentando significativamente a sensibilidade da TS-FF-AAS na determinação de Cu. Dessa forma, o acoplamento dos tubos torna-se uma aplicação

analítica interessante na determinação de Cu devido ao aumento da sensibilidade e baixo custo dos atomizadores, cerca de R\$60,00 um tubo com dimensões do Ti2.

Capítulo 7

CONCLUSÕES

7. Conclusões

A utilização de tubos atomizadores de Ti se mostrou uma alternativa atrativa para a determinação de Cu empregando a TS-FF-AAS em relação aos tubos atomizadores convencionais de Ni. Todos os tubos de Ti apresentaram maior sensibilidade na determinação de Cu em comparação aos tubos de Ni. Porém, o acoplamento Ni/Ti2 possibilitou os maiores sinais analíticos para o Cu, devido a formação de grande quantidade de TiO_2 que ficou acumulada no interior do tubo de Ti2 facilitando os processos de atomização do Cu *via* óxido. O tubo de Ni ofereceu proteção física ao tubo de Ti evitando o desprendimento de Ti na forma de TiO_2 e prolongando o tempo de vida útil do Ti, o que não ocorreu com os tubos de Ti4, Ti5, Ti6 e $Ti_{chanfrado}$ que estavam em contato direto com a chama do espectrômetro. O limite de detecção de $2 \mu g L^{-1}$ foi atingido com o uso do tubo Ni/Ti2, valor nove vezes menor que o limite de detecção com tubo de Ni6.

O tamanho dos tubos atomizadores de Ti inseridos no interior dos tubos de Ni foi um parâmetro importante para a melhora na sensibilidade de Cu. Quanto maior o tubo de Ti inserido, maior a sensibilidade, devido à maior superfície metálica que será oxidada e convertida em óxido, facilitando os processos de atomização do Cu. Entretanto, devido ao maior custo dos tubos de Ti em relação aos tubos de Ni (R\$ 25,00), um tamanho médio foi escolhido visando à relação custo/sensibilidade.

Dentre os tubos atomizadores de Ti avaliados o tubo Ni/Ti2 apresentou as melhores respostas para os valores de absorvância e absorvância integrada para o Cu, devido à maior quantidade de Ti no interior do tubo e ao menor volume interno em comparação aos demais tubos atomizadores de Ti.

A atomização de Cu no atomizador de Ti (Ni/Ti1) foi semelhante à obtida com o tubo de Ni6 na presença dos concomitantes Ca, K, Mg e Na, sendo que o Mg foi o concomitante com a maior interferência positiva em ambos os tubos. Além disso, quando todos os concomitantes estavam presentes ouve uma compensação entre os concomitantes que afetam negativamente e positivamente o sinal de Cu, fazendo com que os valores de absorvância e absorvância integrada sejam próximos ao sinal de Cu na ausência de concomitantes.

Utilizando-se valores estimados de temperatura da fase gasosa no interior dos tubos metálicos, não foi possível associar o aumento de sensibilidade

propiciada pelos tubos atomizadores de Ti com a temperatura de suas fases gasosas. Isso se deve ao fato da temperatura da fase gasosa ter sido maior no interior de um tubo de Ni6, quando a vazão otimizada ($0,4 \text{ mL min}^{-1}$) foi utilizada.

Tanto as micro-análises quanto os difratogramas de raios-X permitiram associar a melhora significativa para os sinais de Cu, quando foram utilizados tubos atomizadores de Ti, devido à formação de TiO_2 à medida que ocorria o aquecimento do tubo metálico. As micro-análises indicaram presença de 90% de oxigênio na superfície do tubo de Ti usado, enquanto que os difratogramas mostraram que todo o Ti metálico de um tubo novo foi oxidado para TiO_2 . Como o mecanismo de atomização do Cu ocorre preferencialmente *via* óxido há uma apreciável melhora para o sinal de Cu.

O uso de HNO_3 diluído em combinação com H_2O_2 propiciou a decomposição das amostras empregando radiação-assistida por microondas com cavidade. A exatidão do método proposto foi confirmado pela análise dos CRM's. Todas as amostras apresentaram valores de recuperação na faixa de 100%. Os testes t não pareado demonstraram não haver diferenças significativas entre os valores encontrados e os valores certificados ao nível de confiança de 95%.

A utilização de tubos atomizadores de Ti, em especial o acoplamento de Ni e Ti, mostrou ser uma alternativa interessante para a determinação de Cu em amostras de alimentos e de materiais biológicos.

Capítulo 8

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. Referências Bibliográficas

1. STRATHERN, P. O Sonho de Mendeleiev, A verdadeira história da Química. 1ª ed. Trad. M. L. X. A. B. Rio de Janeiro, Jorge Zahar Editor, 2002. 264 p.
2. KUBAN, P.; GUCHARD, R. & HAUSER, P.C. "Trace-metal analysis with separation methods". Trends Anal. Chem., 24(3): 192-198, 2005.
3. WELZ, B. & SPERLING, M. Atomic Absorption Spectrometry. 3a ed. Weinheim, Wiley-VCH, 1999. 941 p.
4. CONAMA. <http://www.mma.gov.br/port/conama/>, acesso em 20/09/2008
5. ROSSINI, F.; MATOS, W. O.; SANTOS, M. C. & NÓBREGA, J. A. "Resolução CONAMA nº 357 e técnicas espectroanalíticas: meios adequados aos fins?". Revista Analítica, 22(4-5): 74-85, 2006.
6. VANDECASTEELE, C. & BLOCK, C. B. Modern Methods for Trace Element Determination. 1ª ed. Chichester, John Wiley & Sons Ltd, 1997. 93 p.
7. MATUZIEWICZ, H. "Atom trapping and in situ preconcentration techniques for flame atomic absorption spectrometry". Spectrochim. Acta Part B, 52 (12): 1711-1736, 1997.
8. GÁSPÁR, A. & BERNDT, H., "Beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry: a new flame method". Anal. Chem., 72(1): 240-246, 2000.
9. GÁSPÁR, A. & BERNDT, H. "Thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) - a simple method for trace element determination with microsamples in the µg/l concentration range". Spectrochim. Acta Part B, 55(6): 587-597, 2000.
10. PETRUCCELLI, G. A.; STOCCO, P. K.; BUENO, M. I. M. S. & PEREIRA-FILHO, E. R. "Tube atomizers in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry: characterization using x-ray fluorescence, scanning electron microscopy and chemometrics". J. Anal. Atom. Spectrom., 21(11): 1298-1304, 2006.
11. FILGUEIRAS, C. A. L. "A espectroscopia e a química - da descoberta de novos elementos ao limiar da teoria quântica". Quím. Nova na Escola, 3: 22-25, 1996.
12. RUST, J. A.; NÓBREGA, J. A.; JUNIOR, C. P. C. & JONES, B. T. "Fraunhofer effect atomic absorption spectrometry". Anal. Chem., 77(4): 1060-1067, 2005.
13. OKUMURA, F.; CAVALHEIRO, E. T. & NÓBREGA, J. A. "Experimentos simples usando fotometria de chama para ensino de princípios de espectrometria atômica em cursos de química analítica". Quím. Nova, 27 (5): 832-836, 2004.
14. WELZ, B.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U. & VALE, G. R. "High-resolution continuum-source atomic absorption spectrometry – what can we expect?". J. Braz. Chem. Soc., 14(2): 220-229, 2003.
15. L'VOV, B. V. "Fifty years of atomic absorption spectrometry". J. Anal. Chem., 60(4): 382-392, 2005.
16. SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T.A. Principles of Instrumental Analysis. 5ª ed. Philadelphia, Saunders College, 1998. p.

17. WALSH, A. "Atomic absorption spectrometry – stagnant or pregnant?" *Anal. Chem.*, 46(8): 698 -708, 1974.
18. HIEFTJE, G. M. "Atomic absorption spectrometry – Has it gone or where is it going" *J. Anal. At. Spectrom.*, 4 (2): 117-122 , 1989.
19. ROBINSON, J. W. "Observations in atomic absorption spectroscopy". *Anal. Chim. Acta*, 27(5): 465-469, 1962.
20. ZELJUKOVA, Y. V. & POLUEKTOV, N. S. "Atomic-absorption analyses by means of exhaust gases of the flame". *Zh. Anal. Khim.*, 18: 435-439, 1963.
21. FUWA, K. & VALEE, B. L. "The physicals basis of analytical atomic absorption spectrometry. The pertinence of the Beer-Lambert law". *Anal. Chem.*, 35 (8): 942-946, 1963.
22. DELVES, H. T. "A micro-sampling method for the rapid determination of lead in blood by atomic-absorption spectrometry". *Analyst*, 95(1130): 431-438, 1970.
23. WARD, A. F.; MITCHELL, D. G. & ALDOUS, K. M. "Use of nitrous oxide-acetylene flame to minimize interferences in microsampling-cup atomic absorption spectrometry". *Anal. Chem.*, 47(9): 1656-1661, 1975.
24. KAHL, M.; MITCHELL, D. G.; KAUFMAN, G. I. & ALDOUS, K. M. "A microsampling cup system for use in atomic absorption spectrometry with a nitrous oxide-acetylene flame". *Anal. Chim. Acta*, 87: 215-219, 1976.
25. WALTING, R. J. "The use of a slotted quartz tube for the determination of arsenic, antimony, selenium and mercury". *Anal. Chim. Acta.*, 94(1): 181-186, 1977.
26. WALTING, R. J. "The use of a slotted tube for the determination of lead, zinc, cadmium, bismuth, cobalt, manganese and silver by atomic absorption spectrometry". *Anal. Chim. Acta.*, 97(2): 395-398, 1978.
27. LAU, C.; HELD, A. & STEPHENS, R. "Sensitivity enhancements to flame AAS by use of a flame atom trap". *Can. J. Spectrosc.*, 21: 100-104, 1976.
28. TURNER, A. D. & ROBERTS, D. J. "Metal determination with a novel slotted-tube water-cooled atom trap". *J. Anal. At. Spectrom.*, 11(4): 231-234, 1996.
29. BERNDT, H., "High pressure nebulization: a new way of sample introduction for atomic spectroscopy". *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 331(3-4): 321-323, 1988.
30. NEIRA, J. & BERNDT, H. "Determination of Cd and Pb at µg/l levels by HHPN-beam injection flame furnace-AAS". *Fresenius J. Anal. Chem.*, 368(7): 649-655, 2000.
31. WALSH, A. "The application of atomic absorption spectrochemical analysis". *Spectrochim. Acta*, 7(2): 108-117, 1955.
32. VESTAL, M.L. & FERGUSON, G. "Thermospray liquid chromatography mass spectrometer interface with direct electrical heating of the capillary". *Anal. Chem.*, 57(12): 2373-2378, 1985.
33. ROBINSON, J. W. & CHOI, D. S. "The development of a thermospray flame atomizer for AA improved sensitivity interfacing with HPLC". *Spectrosc. Lett.*, 20(4): 375-390, 1987.
34. CURZON, F. L. "The Leidenfrost phenomenon". *Am. J. Phys.*, 46(8): 825-828, 1978.
35. Fenômeno Leidenfrost. <http://volcaniclightning.tripod.com/leidenfr.htm>, acesso em 15/09/2008.
36. GÁSPÁR, A.; SZÉLEZ, E. & BERNDT, H. "Analysis of submicroliter

- samples using micro thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Anal. Bioanal. Chem.*, 372(1): 136-140, 2002.
37. PEREIRA-FILHO, E. R.; BERNDT, H. & ARRUDA, M. A. Z. "Simultaneous sample digestion and determination of Cd, Cu and Pb in biological samples using thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) with slurry sample introduction". *J. Anal. Atom. Spectrom.*, 17 (10): 1308-1315, 2002.
 38. DAVIES, J. & BERNDT, H. "Improvements in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Anal Chim. Acta*, 479(2): 215-223, 2003.
 39. TARLEY, C. R. T. & ARRUDA, M. A. Z. "A sensitive method for cadmium determination using an on-line polyurethane foam preconcentration system and thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Anal. Sci.*, 20(6): 961-966, 2004.
 40. NASCENTES, C. C.; ARRUDA, M. A. Z.; NOGUEIRA, A. R. A. & NÓBREGA, J. A. "Direct determination of Cu and Zn in fruit juices and bovine milk by thermospray flame atomic absorption spectrometry". *Talanta*, 64(4): 912-917, 2004.
 41. GONZÁLEZ, E.; AHUMADA, R.; MEDINA, V.; NEIRA, J. & GONZÁLEZ, U. "Espectrofotometría de absorción atómica con tubo en la llama: aplicación en la determinación total de cadmio, plomo y zinc en aguas frescas, agua de mar y sedimentos marinos". *Quím. Nova*, 27(6): 873-877, 2004.
 42. IVANOVA, E.; BERNDT, H. & PULVERMACHER, E. "Air driven on-line separation and preconcentration on a C18 column coupled with thermospray flame furnace AAS for the determinations of cadmium and lead at $\mu\text{g l}^{-1}$ levels". *J. Anal. At. Spectrom.*, 19(11): 1507-1509, 2004.
 43. PEREIRA, M. G.; PEREIRA-FILHO, E. R.; BERNDT, H. & ARRUDA, M. A. Z. "Determination of cadmium and lead at low levels by using preconcentration at fullerene coupled to thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Spectrochim. Acta, Part B*, 59(4): 515-521, 2004.
 44. NASCENTES, C. C.; KAMOGAWA, M. Y.; FERNANDES, K. G.; ARRUDA, M. A. Z.; NOGUEIRA, A. R. A. & NÓBREGA, J. A. "Direct determination of Cu, Mn, Pb, and Zn in beer by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Spectrochim. Acta, Part B*, 60(5): 749-753, 2005.
 45. LOBO, F. A.; VILLAFRANCA, A. C.; OLIVEIRA, A. P. & MORAES, M. "Sistema TS-FF-AAS com chama acetileno-ar como alternativa em relação à chama acetileno-óxido nitroso em FAAS na determinação de estanho". *Ecl. Quím.*, 30(2): 61-68, 2005.
 46. TARLEY, C. R. T. & ARRUDA, M. A. Z. "Online coupling of a flow system to TS-FF-AAS for preconcentration and determination of lead in water and vegetables". *Anal. Lett.*, 38(9): 1427-1443, 2005.
 47. BRANCALION, M. L. & ARRUDA, M. A. Z. "Evaluation of medicinal plant decomposition efficiency using microwave ovens and mini-vials for Cd determination by TS-FF-AAS". *Microchim. Acta*, 150(3): 283-290, 2005.
 48. BERNDT, H. & PULVERMACHER, E. "Sample introduction assisted by compressed air in flame furnace AAS: a simple and sensitive method for the determinations of toxic elements". *Anal. Bioanal. Chem.*, 382(8): 1826-1834, 2005.
 49. TARLEY, C. R. T.; FIGUEIREDO, E. C. & MATOS, G. D. "Thermospray

- flame furnace-AAS determinations of cooper after on-line sorbent preconcentration using a system optimized by experimental designs". *Anal. Sci.*, 21(11): 1337-1342, 2005.
50. DONATI, G. L.; NASCENTES, C. C.; NOGUEIRA, A. R. A.; ARRUDA, M. A. Z. & NÓBREGA, J. A. "Acid extraction and cloud point preconcentration as sample preparation strategies for cobalt determination in biological materials by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Microchem. J.*, 82(2): 189-195, 2006.
 51. PEREIRA, F. M. V.; PEREIRA-FILHO, E. R. & BUENO, M. I. M. S. "Development of a methodology for calcium, iron, potassium, magnesium manganese, and zinc quantification in teas using X-ray spectroscopy and multivariate calibration". *J. Agric. Food Chem.*, 54(16): 5723-5730, 2006.
 52. TARLEY, C. R. T.; BARBOSA, A. F.; SEGATELLI, M. G.; FIGUEIREDO, E. C. & LUCCAS, P. O. "Highly improved sensitivity of TS-FF-AAS for Cd(II) determination at ng L⁻¹ levels using a simple flow injection minicolumn preconcentration system with multiwall carbon nanotubes". *J. Anal. At. Spectrom.*, 21(11): 1305-1313, 2006.
 53. WU, P.; ZHANG, Y.; LV, Y. & HOU, X. "Cloud point extraction-thermospray flame quartz furnace atomic absorption spectrometry for determination of ultratrace cadmium in water and urine". *Spectrochim. Acta, Part B*, 61(12): 1310-1314, 2006.
 54. MATOS, G. D. & ARRUDA, M. A. Z. "Online preconcentration / determination of cadmium using grape bagasse in a flow system coupled to thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Spectrosc. Lett.*, 39(6): 755-768, 2006.
 55. LOBO, F. A.; VILLAFRANCA, A. C.; OLIVEIRA, A. P. & MORAES, M. "Comparison of metallic and ceramic tubes as atomization cells for tin determination by TS-FF-AAS". *At. Spectrosc.*, 28(1): 17-23, 2007.
 56. AMORIM, F. A. C. & BEZERRA, M. A. "Online preconcentration system for determining ultratrace amounts of Cd in vegetal samples using thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Microchim. Acta*, 159(1): 183-189, 2007.
 57. PETRUCCELLI, G. A.; POPPI, R. J.; MINCATO, R. L. & PEREIRA-FILHO, E. R. "TS-FF-AAS and multivariate calibration: a proposition for sewage sludge slurry sample analyses". *Talanta*, 71(2): 620-626, 2007.
 58. ROSINI, F.; NASCENTES, C. C.; NEIRA, J. Y. & NÓBREGA, J. A. "Evaluation of selenium behavior in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Talanta*, 73(5): 845-849, 2007.
 59. BRANCALION, M. L.; SABADINI, E. & ARRUDA, M. A. Z. "Description of the thermospray formed at low flow rate in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry based on high-speed images". *Anal. Chem.*, 79(17): 6527-6533, 2007.
 60. LEMOS, V. A.; BEZERRA, M. A. & AMORIM, F. A. C. "On-line preconcentration using a resin functionalized with 3,4-dihydroxybenzoic acid for the determination of trace elements in biological samples by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *J. Harzard.. Mater.*, 157(2-3): 613-619, 2008.
 61. WU, P.; GAO, Y.; CHENG, G.; YANG, W.; LV, Y. & HOU, X. "Selective determination of trace amounts of silver in complicated matrices by displacement-cloud point extraction coupled with thermospray flame

- furnace atomic absorption spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.*, 23(5): 752-757, 2008.
62. MATOS, G. D. & ARRUDA, M. A. Z. "Improvements in cobalt determination by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry using an on-line derivatization strategy". *Talanta*, 76(2): 475-478, 2008.
 63. SCHIAVO, D.; NEIRA, J. Y & NÓBREGA, J. A. "Direct determination of Cd, Cu and Pb in wines and grapes juices by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry". *Talanta*, 76(5): 1113-1118, 2008.
 64. COELHO, L. M.; BEZERRA, M. A.; ARRUDA, M. A. Z.; BRUNS, R. E. & FERREIRA, S. L. C. "Determination of Cd, Cu, and Pb after cloud point extraction using multielemental sequential determination by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS)". *Sep. Sci. Technol.*, 43(4): 815-827, 2008.
 65. SCHIAVO, D. & NÓBREGA, J. A. "Interferences in Thermospray Flame Furnace AAS: Co and Mn Behavior". *Spectrosc. Lett.*, 41(7): 354-360, 2008
 66. DA-COL, J. A.; DOMENE, S. M. A. & PEREIRA-FILHO, E. R. "Fast Determination of Cd, Fe, Pb, and Zn in Food using AAS" *Food Anal. Methods*, no prelo. DOI: 10.1007/s12161-008-9041-4.
 67. KRUG, F. J. Métodos de preparo de amostras - fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. 1ª ed., Piracicaba, 2008. 340 p.
 68. NÓBREGA, J. A.; TREVIZAN, L. C.; ARAÚJO, G. C. L. & NOGUEIRA, A. R. A. "Focused-microwave-assisted strategies for sample preparation". *Spectrochim. Acta B*, 57(12): 1855-1876, 2002.
 69. BARBOZA, A. C. R. N.; CRUZ, C. M. S.; GRAZIANI, M. B.; LORENZETTI, C. F. & SABADINI, E. "Aquecimento em fornos de microondas/ desenvolvimento de alguns conceitos fundamentais". *Quim. Nova*, 24(6): 901, 2001.
 70. SamplePrep Web. [http:// www.sampleprep.duq.edu/sampleprep/](http://www.sampleprep.duq.edu/sampleprep/) acesso em 12/10/2008.
 71. ARAÚJO, G. C. L.; GONZALEZ, M. H. FERREIRA, A. G.; NOGUEIRA, A. R. A. & NÓBREGA, J. A. "Effect of acid concentration on closed-vessel microwave-assisted digestion of plant materials". *Spectrochim. Acta B*, 57(12): 2121-2132, 2002.
 72. KINGSTON, H. M. & HASWELL, S. J. Microwave-enhanced chemistry. Fundamentals, Sample Preparation and Application. ed. American Chemical Society, Washington, 1997. 772 p.
 73. LÖNNERDAL, B. "Bioavailability of copper" *Am. J. Clin. Nutr.*, 63(): 821S-829S, 1996.
 74. COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade dos nutrientes. 1ª ed., Manole, Barueri, 2005. 631 p.
 75. Camacam Industrial Ltda. Certificado de análise do fabricante para as ligas metálicas.
 76. LIDE, D. R. CRC Handbook of Chemistry and Physics. 87ª ed., Boca Raton, Londres e Nova Iorque, 2008.
 77. BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S. & BRUNS, R. E. Como fazer experimentos. 3ª ed. Editora da Unicamp, Campinas, 2007. 480 p.
 78. CHAKRABARTI, C. L.; SHAOLE, W.; KARWOWSKA, R.; ROGERS, J. T.;

- HALEY, L.; BERTELS, P. C. & DICK, R. "Temperature of platform, furnace wall and vapour in a pulse-heated electrothermal graphite furnace in atomic absorption spectrometry". *Spectrochim. Acta B*, 39(2-3): 415-448, 1984.
79. STYRIS, D. L. & REDFIELD, D. A. "Perspectives on mechanisms of electrothermal atomization". *Spectrochim. Acta B*, 15(2): 71-123, 1993.